Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

[redacted]fünfzigster Band.

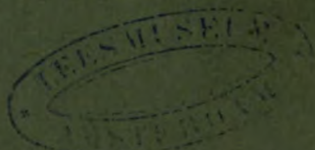
1913.

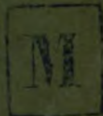




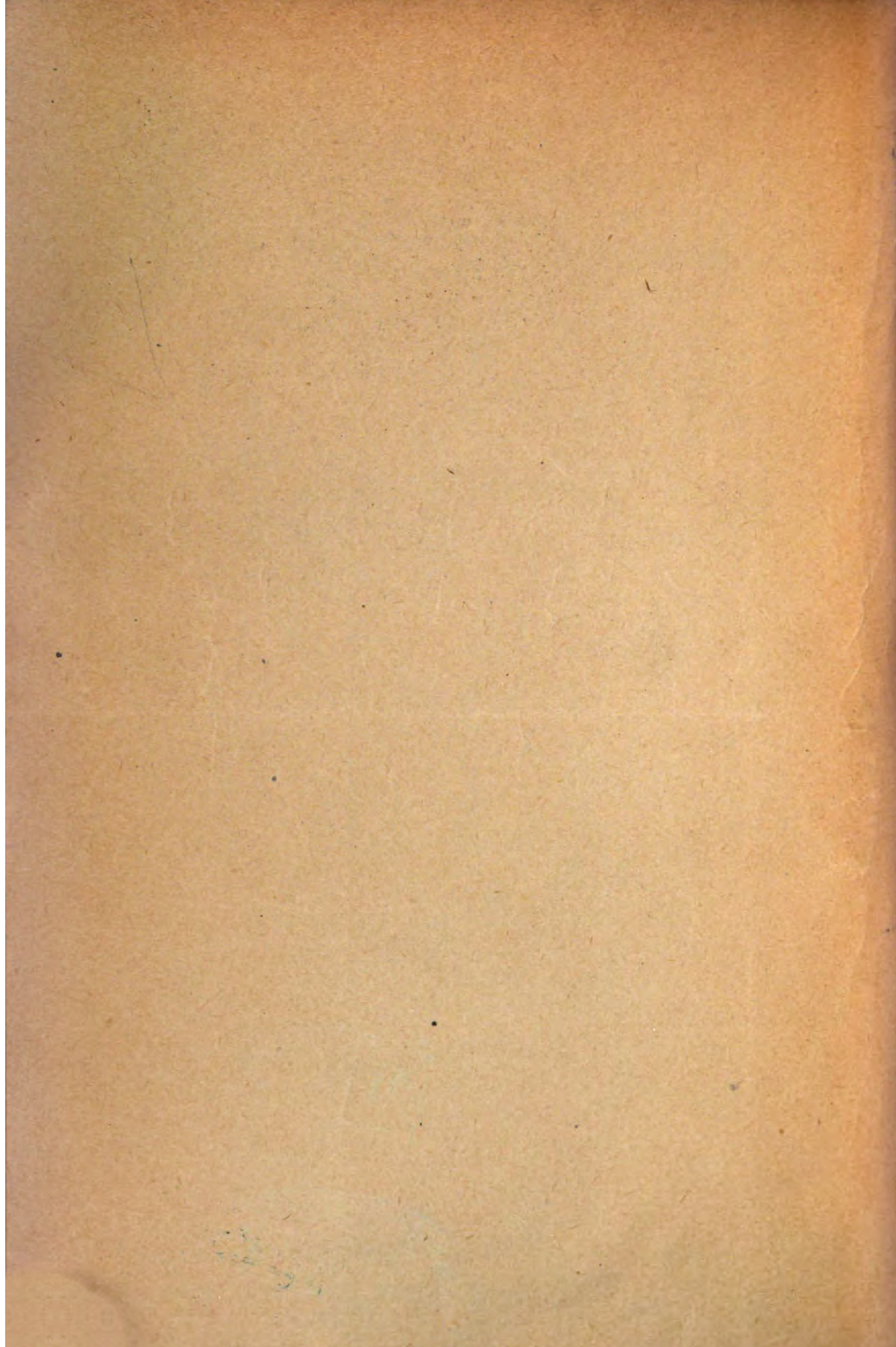


Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1913.






F.G. KOSTER · BOEKBINDER ·



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **G. Embden**-Frankfurt a. Main, **H. v. Euler**-Stockholm, **S. Flexner**-New York, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **U. Friedemann**-Berlin, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **W. Loeb**-Berlin, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Berlin, **L. Michaelis**-Berlin, **J. Morgenroth**-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Roehmann**-Breslau, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **F. Tangl**-Budapest, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **J. Traube**-Charlottenburg, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Fünfzigster Band.





Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1913.



Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Über den Einfluß verschiedener Substanzen auf die Keimung der Pflanzensamen. Wachstumsförderung durch einige.

I. Mitteilung.

Von

Th. Bokorny.

(Eingegangen am 23. Februar 1913.)

Aus den landwirtschaftlichen Versuchsanstalten und aus der landwirtschaftlichen Praxis dringen Nachrichten über merkwürdige Erfolge des Zusatzes gewisser Stoffe zum Ackerboden an das Ohr des Physiologen wie auch des Praktikers.

Nach Griffith und Baumann erhöht die Anwendung von Eisensulfat das Wachstum der Senfpflanzen; auch bei vielen anderen phanerogamen Pflanzen wurden ähnliche Resultate erhalten. Nach O. Loew und seiner Schule (Kanada, Hattori, Takeuchi, Katayama) verursachen auch andere Metallsalze eine Ernteesteigerung, so Manganvitriol, Kupfervitriol, Natriumfluorid, Jodkalium usw. Aulhon[1]) fand, daß Bor in geeigneten Mengen eine Reizwirkung ausübt.

Was die genannten japanischen Arbeiten[2]) anlangt, so konnte ich von einigen derselben direkte Einsicht nehmen. So von der Arbeit Hattoris über Einwirkung des Kupfersulfates auf einige Pflanzen. Er teilt mit, daß schon 0,001 bis 0,005 $^0/_0$ige Kupfervitriollösung auf Zweige von Cryptomeria, Pinus, Thuja schädlich einwirkt. Thuja ist etwas widerstandsfähiger als die zwei anderen Arten. Die Gartenerde besitzt eine merkliche Absorptionskraft für Kupfersalze, so daß sie als entgiftendes Mittel zunächst wirkt; infolgedessen können stark gekupferte Topfpflanzen auf längere Zeitdauer ihre Lebenstätigkeit fortsetzen. Die Wurzeln von Erbse und Mais sind gegen das Kupfer so empfindlich, daß sie schon in stark verdünnter Kupfervitriollösung absterben. Am

---

[1]) Recherches sur la présence et le rôle du bore chez les végétaux, thèse, Paris 1910.

[2]) Bot. Inst. der K. Univ. Tokio, Juni 1900.

empfindlichsten ist gewöhnlich die Wachstumszone. Die erkrankte Wurzel wird zuerst milchweiß, dann schwach gelblichbraun und schließlich dunkelbraun. Um Erbsenwurzeln lebendig zu erhalten, muß man die Verdünnung 0,00005 bis 0,00007 % wählen, bei Mais sogar 0,000005 bis 0,000001 %. Eine schädliche Einwirkung auf den Zuwachs bleibt auch dann noch zu bemerken. Von einer Beschleunigung des Wachstums der genannten Blütenpflanzen durch Kupfervitriol in irgendeiner Verdünnung berichtet Hattori nichts. Hingegen kann nach ihm das Kupfer als Reizmittel das Wachstum einiger Pilze beschleunigen. Die günstigste Konzentration liegt bei Penicillium bei ca. 0,008 % und bei Aspergillus bei ca. 0,004 %.

Über Wachstumsförderung von Pilzen durch Kupfervitriol berichtet auch Edwin Brown Fred im Centralbl. f. Bakt. **31**, daß Bierhefe durch Kupfervitriol von 1 : 100000 günstig beeinflußt wird. Nach meinen Beobachtungen aber wird Bierhefe durch 0,001 % Kupfervitriol getötet.

Nach demselben Verfasser verursacht Schwefelkohlenstoff von 1 : 100000 eine gesteigerte Vermehrung des Bacillus pyocyaneus, ferner bei Azotobacter eine gesteigerte Stickstoffbindung; dasselbe bewirkt auch Äther von 1 : 3000. Kaliumdichromat von 1 : 1000000 soll die Vermehrung von Bac. pyocyaneus steigern.

K. Aso berichtet (On the action of sodium fluorid upon Plant Life; Bot. Inst. K. Univ. Tokio 1901), daß 0,005 bis 0,001 % Fluornatrium fördernd auf das Wachstum der Gerstenkeimlinge einwirkt. Auch bei Cornus macrophylla konstatierte er einen fördernden (beschleunigenden) Einfluß von Natriumfluorid in der Verdünnung 0,01 bis 0,0001 %. Bodenkulturen von Erbsen ergaben ebenfalls einen beschleunigenden und fördernden Einfluß des Fluornatriums. Wenn zum Begießen Wasser mit 0,00001 % Fluornatrium angewandt wurde, waren die geernteten Pflanzen schwerer:

	Fluornatrium-pflanzen g	Kontroll-pflanzen g
Gewicht der frischen Früchte . .	71,7	60,5
Gewicht der lufttrockenen Früchte	27,2	23,2
Strohgewicht	17,7	10,7

Der Unterschied ist ziemlich beträchtlich, besonders beim Stroh.

Bezüglich der Pilze und sonstigen niederen Organismen sei noch hervorgehoben, daß außer den genannten auch andere Angaben in der Literatur vorliegen, die auf die wachstumfördernde Einwirkung gewisser Stoffe hinweisen.

Raulin stellte schon vor 50 Jahren fest, daß das Erntegewicht von Aspergillus niger durch kleine Zugaben von Zink und Mangan gesteigert wird. Das wurde von anderen Forschern bestätigt.

Daß die Gasbildung von Hefe durch 0,01 % Ameisensäure

gesteigert wird, wie Hoffmann[1]) angibt, gehört streng genommen nicht hierher, da dies nicht eine Wachstumssteigerung bedeuten muß, sondern auf einen Anreiz, den die Zymase erfährt, zurückzuführen sein kann.

Dasselbe gilt auch von der Angabe Schulz'[2]), daß Sublimat 1 : 500000 bis 1 : 700000, ferner Jod 1 : 600000, Jodkalium 1 : 100000, Brom 1 : 300000, Chromsäure 1 : 600000, Salicylsäure 1 : 4000 und Ameisensäure 1 : 40000 bis 1 : 10000 die Hefegärung begünstigt. Besteht diese Begünstigung in einer besseren Vermehrung der Hefe und damit stärkeren Vermehrung der Zymase, oder in einem Anreiz auf das Gärungsenzym selbst?

Schulz kommt bei Hefe-(also Pflanzen)zellen zu demselben Schluß wie Arndt bei tierischen Zellen, nämlich „daß jeder Reiz auf jede lebende Zelle eine Wirkung ausübt, deren Effekt hinsichtlich der Zelltätigkeit umgekehrt proportional ist der Intensität des Reizes“.

Dieser etwas schwer verständliche Satz läuft wohl darauf hinaus, daß Stoffe, die in größeren Mengen auf Lebewesen giftig wirken, in kleinen Mengen denselben Organismus zu kräftigerer Lebensäußerung reizen. So wird der Arndtsche Satz z. B. von Edwin Brown Fred [Beschleunigung der Lebenstätigkeit höherer und niederer Pflanzen usw.][3]) aufgefaßt.

„Gärungsteigernde Mittel“ sind dann nach Effront (später von Maercker und Heinzelmann bestätigt) Fluorverbindungen, wie Flußsäure (bei großer Verdünnung), Fluornatrium usw.

Pommer hat sich H_2O_2, Gorner CS_2 als gärungsteigerndes Mittel patentieren lassen.

Nach Krüger[4]) verursacht Kupfersulfat (1 : 30000) eine Steigerung der Gärungstätigkeit der Hefe in den ersten 7 bis 8 Tagen; danach aber findet die Gärung nicht schneller als in den unbehandelten Kulturen statt.

Kleine Mengen von Chlornatrium wirken nach Richet[5]) steigernd auf die Milchsäuregärung; ebenso (nach späterer Mitteilung) Kupfervitriol, Platinchlorid usw.

3,5 %iger Alkohol soll nach Wirgin[6]) auf Essigbakterien günstig wirken.

Ein gewisser Prozentsatz von Milchsäure trägt nach Beijerinck[7]) zur Hefebildung bei; daher soll es kommen, daß Hefe und Milchsäurebakterien in Symbiose zusammenleben.

---

1) Dissert. Greifswald 1884.
2) Arch. f. d. ges. Physiol. 42.
3) l. c.
4) Centralbl. f. Bakt. 1.
5) Compt. rend. 1892.
6) Zeitschr. f. Hygiene 40.
7) Arch. néerl. 23, 1890.

empfindlichsten ist gewöhnlich die Wachstumszone. Die erkrankte Wurzel wird zuerst milchweiß, dann schwach gelblichbraun und schließlich dunkelbraun. Um Erbsenwurzeln lebendig zu erhalten, muß man die Verdünnung 0,00005 bis 0,00007 % wählen, bei Mais sogar 0,000005 bis 0,000001 %. Eine schädliche Einwirkung auf den Zuwachs bleibt auch dann noch zu bemerken. Von einer Beschleunigung des Wachstums der genannten Blütenpflanzen durch Kupfervitriol in irgendeiner Verdünnung berichtet Hattori nichts. Hingegen kann nach ihm das Kupfer als Reizmittel das Wachstum einiger Pilze beschleunigen. Die günstigste Konzentration liegt bei Penicillium bei ca. 0,008 % und bei Aspergillus bei ca. 0,004 %.

Über Wachstumsförderung von Pilzen durch Kupfervitriol berichtet auch Edwin Brown Fred im Centralbl. f. Bakt. **31**, daß Bierhefe durch Kupfervitriol von 1 : 100000 günstig beeinflußt wird. Nach meinen Beobachtungen aber wird Bierhefe durch 0,001 % Kupfervitriol getötet.

Nach demselben Verfasser verursacht Schwefelkohlenstoff von 1 : 100000 eine gesteigerte Vermehrung des Bacillus pyocyaneus, ferner bei Azotobacter eine gesteigerte Stickstoffbindung; dasselbe bewirkt auch Äther von 1 : 3000. Kaliumdichromat von 1 : 1000000 soll die Vermehrung von Bac. pyocyaneus steigern.

K. Aso berichtet (On the action of sodium fluorid upon Plant Life; Bot. Inst. K. Univ. Tokio 1901), daß 0,005 bis 0,001 % Fluornatrium fördernd auf das Wachstum der Gerstenkeimlinge einwirkt. Auch bei Cornus macrophylla konstatierte er einen fördernden (beschleunigenden) Einfluß von Natriumfluorid in der Verdünnung 0,01 bis 0,0001 %. Bodenkulturen von Erbsen ergaben ebenfalls einen beschleunigenden und fördernden Einfluß des Fluornatriums. Wenn zum Begießen Wasser mit 0,00001 % Fluornatrium angewandt wurde, waren die geernteten Pflanzen schwerer:

	Fluornatrium-pflanzen g	Kontroll-pflanzen g
Gewicht der frischen Früchte . .	71,7	60,5
Gewicht der lufttrockenen Früchte	27,2	23,2
Strohgewicht	17,7	10,7

Der Unterschied ist ziemlich beträchtlich, besonders beim Stroh.

Bezüglich der Pilze und sonstigen niederen Organismen sei noch hervorgehoben, daß außer den genannten auch andere Angaben in der Literatur vorliegen, die auf die wachstumfördernde Einwirkung gewisser Stoffe hinweisen.

Raulin stellte schon vor 50 Jahren fest, daß das Erntegewicht von Aspergillus niger durch kleine Zugaben von Zink und Mangan gesteigert wird. Das wurde von anderen Forschern bestätigt.

Daß die Gasbildung von Hefe durch 0,01 % Ameisensäure

gesteigert wird, wie Hoffmann[1]) angibt, gehört streng genommen nicht hierher, da dies nicht eine Wachstumssteigerung bedeuten muß, sondern auf einen Anreiz, den die Zymase erfährt, zurückzuführen sein kann.

Dasselbe gilt auch von der Angabe Schulz'[2]), daß Sublimat 1 : 500000 bis 1 : 700000, ferner Jod 1 : 600000, Jodkalium 1 : 100000, Brom 1 : 300000, Chromsäure 1 : 600000, Salicylsäure 1 : 4000 und Ameisensäure 1 : 40000 bis 1 : 10000 die Hefegärung begünstigt. Besteht diese Begünstigung in einer besseren Vermehrung der Hefe und damit stärkeren Vermehrung der Zymase, oder in einem Anreiz auf das Gärungsenzym selbst?

Schulz kommt bei Hefe-(also Pflanzen)zellen zu demselben Schluß wie Arndt bei tierischen Zellen, nämlich „daß jeder Reiz auf jede lebende Zelle eine Wirkung ausübt, deren Effekt hinsichtlich der Zelltätigkeit umgekehrt proportional ist der Intensität des Reizes".

Dieser etwas schwer verständliche Satz läuft wohl darauf hinaus, daß Stoffe, die in größeren Mengen auf Lebewesen giftig wirken, in kleinen Mengen denselben Organismus zu kräftigerer Lebensäußerung reizen. So wird der Arndtsche Satz z. B. von Edwin Brown Fred [Beschleunigung der Lebenstätigkeit höherer und niederer Pflanzen usw.][3]) aufgefaßt.

„Gärungsteigernde Mittel" sind dann nach Effront (später von Maercker und Heinzelmann bestätigt) Fluorverbindungen, wie Flußsäure (bei großer Verdünnung), Fluornatrium usw.

Pommer hat sich H_2O_2, Gorner CS_2 als gärungsteigerndes Mittel patentieren lassen.

Nach Krüger[4]) verursacht Kupfersulfat (1 : 30000) eine Steigerung der Gärungstätigkeit der Hefe in den ersten 7 bis 8 Tagen; danach aber findet die Gärung nicht schneller als in den unbehandelten Kulturen statt.

Kleine Mengen von Chlornatrium wirken nach Richet[5]) steigernd auf die Milchsäuregärung; ebenso (nach späterer Mitteilung) Kupfervitriol, Platinchlorid usw.

3,5 %iger Alkohol soll nach Wirgin[6]) auf Essigbakterien günstig wirken.

Ein gewisser Prozentsatz von Milchsäure trägt nach Beijerinck[7]) zur Hefebildung bei; daher soll es kommen, daß Hefe und Milchsäurebakterien in Symbiose zusammenleben.

---

[1]) Dissert. Greifswald 1884.
[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. 42.
[3]) l. c.
[4]) Centralbl. f. Bakt. 1.
[5]) Compt. rend. 1892.
[6]) Zeitschr. f. Hygiene 40.
[7]) Arch. néerl. 23, 1890.

Die Atmungstätigkeit von Aspergillus niger wird nach Kosinski[1]) durch Zugaben von Zinksulfat gesteigert. Javillier[2]) fand eine Gewichtszunahme nach Zusatz von Zink.

Algen (Spirogyren u. dgl.) erfahren durch giftige Substanzen, wenn sie in außerordentlich kleiner Menge angewendet werden, eine Steigerung des Wachstums, z. B. durch Kupfervitriol (Oligodynamische Wirkungen, Naegeli).

Pozzi-Escot[3]) hat einen Zusatz von 1:10000 bis 1:50000 Kupfervitriol zur Steigerung der Hefegärung in der Industrie empfohlen.

Kehren wir zu den Phanerogamen zurück, so finden wir in der Literatur außer den obengenannten noch zahlreiche andere Angaben (von Bertrand, Ehrenberg, Strobel, Jensen, Beseler usw.) über die günstige Wirkung des Zusatzes kleiner Mengen von Metallsalzen.

Gelegentlich taucht auch eine konträre Behauptung auf; so fanden Stoklasa und Rhodin eine starke Schädigung nach Zusatz von Mangansalzen. Das liegt wohl an der zu starken Konzentration.

Daß Chloroform eine Reizwirkung auf Mimosa pudica ausübt, wurde schon 1847 von Clémens und Marcet beobachtet.

Eingehendere Angaben über die Wirkung der Narkotica hat Bernard, ferner Elfving gemacht.

Durch verschiedene Forscher und Praktiker wurde dann die Anwendung flüchtiger Gifte, wie Äther, in der Treiberei beim Gartenbetrieb zur Anwendung gebracht.

Dumas, Girard, Oberlin haben dann gefunden, daß der Schwefelkohlenstoff, der eigentlich zur Insektenvertilgung in Weinbergen angewandt wurde, ertragsteigernd auf die dort gebauten Pflanzen wirke.

Woher das kommt, war zunächst strittig. Wird das Bakterienleben des Bodens in einem für die Kulturpflanzen günstigen Sinne beeinflußt? Wird die Kulturpflanze direkt im Wachstum gefördert?

Beides mag zutreffen.

Fred fand bei den schon erwähnten Untersuchungen, daß faktisch eine direkte fördernde Einwirkung des Schwefelkohlenstoffs auf die Blütenpflanzen stattfindet.

Außerdem werden aber auch gewisse Bakterien in ihrer Entwicklung durch Schwefelkohlenstoff von sehr großer Verdünnung begünstigt.

Bei Topfkulturen oder Freilandversuchen ist es freilich schwer, die beiden Vorgänge zu trennen.

Ich verwandte daher zur Beantwortung der Frage, ob der Schwefelkohlenstoff wie auch andere Gifte das Wachstum der

---

[1]) Jahrb. wiss. Bot. 37.

[2]) Annales de l'Inst. Pasteur 1908.

[3]) Chem. Centralbl. 1.

Blütenpflanzen direkt begünstige, fast immer Keimlinge, die auf Fließpapier gezogen wurden[1]).

Die Samen wurden in genügend geräumigen flachen Glasschalen mit Deckel untergebracht, deren Boden mit Fließpapier und der fraglichen Lösung bedeckt war. Die Samen wurden in einer nicht zu großen Menge eingebracht, die Lösung betrug in der Regel 50 ccm.

Ein Zusatz von Nährstoffen ist dabei nicht nötig, da die Keimlinge zunächst ausreichende Nahrung in sich haben oder aus dem Endosperm beziehen.

Damit wird die manchmal eintretende, sehr störende Umsetzung zwischen Gift und Nährsalzen beseitigt, wie z. B. zwischen Phosphaten der Alkalimetalle und Schwermetallsalzen, wodurch die beabsichtigte Konzentration der Giftlösung eine Änderung erfährt.

Auch ist die mehrfach konstatierte Tatsache zu berücksichtigen, daß Gifte für sich allein anders wirken als bei Zumischung anderer Stoffe.

Als Lösungsmittel wurde stets destilliertes Wasser gebraucht.

Auch der Kontrollversuch wurde mit destilliertem Wasser angesetzt.

Die manchmal befürchtete Giftwirkung des destillierten Wassers, die wahrscheinlioh von Spuren Kupfersalz herrührt, hat hier keine Geltung, da die angewandte Samenmenge, bei aller Sparsamkeit im Zusatz derselben zum Wasser, eine viel zu große Masse lebender Substanz darstellte, als daß die Spuren von Kupfer eine Giftwirkung äußern könnten (quantitative Giftwirkung).

Ungünstige Erfahrungen mit destilliertem Wasser kann man nur dann machen, wenn man sehr kleine Quantitäten lebender Zellen, z. B. einige Algenfäden, zu dem Versuche anwendet.

Um die bei Keimungsversuchen oft eintretende Fäulnis und Verschimmelung, die immer von schlechten, nicht keimfähigen Samen ausgeht, zu verhindern, wandte ich meist neben anderen Samenarten auch Kressensamen, manchmal auch diese

---

[1]) Näheres über die Methode siehe in den Schlußbemerkungen.

allein an. Die keimenden Senfsamen entwickeln Senföldunst, der ein kräftiges Gegenmittel gegen Fäulnis und Schimmel ist.

Außerdem ist Kresse eine rasch keimende, fast nie versagende Samenart, die sich auch aus diesem Grunde empfiehlt.

Die Zeit, in der ein Ausschlag erfolgt, ist verschieden, je nach der Konzentration des angewandten Giftes.

Bei stärkeren Konzentrationen merkt man schon in kurzer Zeit (nach 2 Tagen meist) die ungünstige Einwirkung.

Bei großen Verdünnungen, wie sie zur Erforschung der Reizwirkung nötig sind, muß man naturgemäß länger warten.

Binnen 5 bis 10 Tagen erfolgt auch da meist ein Ausschlag in der einen oder anderen Richtung, wenn die Verdünnung eine entsprechende ist.

Wenn nicht, d. h. wenn die Entwicklung mit der des Kontrollversuches gleich ist, dann kann die Reizwirkung zunächst in Abrede gestellt werden.

Es soll damit aber durchaus nicht behauptet werden, daß der betreffende Stoff niemals eine Reizwirkung äußere.

Denn fürs erste verhalten sich nicht alle Pflanzenarten gleich. Fürs zweite ist doch die Beobachtungsdauer von 6 bis 10 Tagen etwas kurz. Freilich geben viele Pflanzen in solcher Frist schon einen Ausschlag. Doch kann es auch anders sein.

Die negativen Resultate sind also zunächst nur als bedingt richtig anzusehen, d. h. als zutreffend bei der angegebenen Pflanze und in der angegebenen Beobachtungszeit.

Die Angaben, die in folgendem über Reizwirkung gemacht werden, sind also in diesem Sinne zu nehmen. Es ist nicht unmöglich, daß bei längerer Beobachtungszeit doch noch eine Reizwirkung an dem einen oder anderen Stoff konstatiert wird.

Angaben über die giftige Wirkung chemischer Stoffe auf höhere Pflanzen finden sich ziemlich viele in der Literatur vor, aber recht zerstreut.

Soweit es dem Verfasser möglich war sie heranzuziehen, ist es geschehen. Freilich lag nicht immer das Original, sondern nur eine Notiz vor, so daß oft nicht ersehen werden konnte, in welcher Weise die Versuche angestellt wurden.

Die Zahl der schädlichen Stoffe ist eine sehr große. Auch das macht die Übersicht schwer.

Im großen und ganzen kann man sagen, daß die Gifte für höhere Pflanzen mehr mit den Giften für Bakterien, Algen, ferner für die sonstigen Pilze, also mit den desinfizierenden und antiseptisch wirkenden Stoffen, übereinstimmen als mit den Giften für höhere Tiere.

Chlorsaure Alkalien sind für manche niederen Pilze fast ungiftig, für Algen wenig schädlich. Buchweizenkeimlinge sterben nach O. Loew mit 0,1 % Kaliumchloratzusatz erst nach 3 Wochen unter Erbleichen ab. Für Säugetiere ist das chlorsaure Kalium sehr schädlich.

Während die Arsensäure für Warmblüter fast ebenso giftig ist wie die arsenige Säure, ist nach Knop 0,05 g arsensaures Kali pro Liter, d. h. 0,005 %, für Mais so wenig schädlich, daß die Pflanzen normale Samen entwickeln. Bei niederen Pilzen ist Arsensäure gar kein Gift.

Arsenige Säure ist für niedere Pilze schwach giftig. Schimmelfäden wachsen in verdünnten Lösungen von arseniger Säure, wenn Spuren von organischer Substanz neben kleinen Mengen von K- und Mg-Salzen sowie Phosphaten vorhanden sind.

Bei Phanerogamen freilich ist nach Nobbe das arsenigsaure Kalium sehr schädlich. Bei 1 : 30 000 As (als arsenigsaures Kali geboten) starben Erbsenpflanzen nach 4 Tagen, bei 1 : 300 000 nach 12 Tagen.

Schwermetallsalze sind meist ziemlich stark giftig für Keimlinge, besonders Kupfervitriol und Sublimat.

Darin stimmen Phanerogamen und niedere Pilze überein.

Auch andere Schwermetallsalze sind ziemlich schädlich, wenn auch weit weniger als Kupfer und Quecksilber.

Nach Knop ist noch 0,005 % Gold-, Kobalt-, Zink-, Cadmium-, Thalliumsalz giftig für Maispflanzen.

Blei- und Wismutsalze wirken zwar verzögernd in dieser Konzentration auf das Wachstum der Keimlinge ein, die sonstigen Funktionen gehen aber ungestört vor sich.

Salpetrige Säure, ferner Formaldehyd scheinen für höhere Pflanzen ebenso giftig zu sein wie für Pilze.

Molisch fand, daß die Wurzeln der höheren Pflanzen rasch von Nitriten getötet werden.

Fluornatrium ist ebenfalls für alle Pflanzen sehr schädlich.

Blätter von Trapa, Elodea, Vallisneria (lauter Blütenpflanzen) sterben in 0,2 %iger Fluornatriumlösung binnen 24 Stunden ab (O. Loew).

Für neutrale Jodide, wie Jodkalium und Jodnatrium, zeigen sich Phanerogamen sehr empfindlich, während Schimmel-, Sproß- und Spaltpilze bei neutraler Beschaffenheit der Nährlösung noch 1 % JK ertragen.

Das liegt nur an der sauren Reaktion des Zellsaftes der Phanerogamen, wodurch Jod freigemacht wird — bei Gegenwart von Sauerstoff, der in den Säften dieser Pflanzen nie fehlen dürfte.

O. Loew verglich an Buchweizensamen die Wirkung kleiner äquivalenter Mengen von NaCl, NaBr, NaJ.

Bei 0,02 % NaBr gelangten die Pflanzen in der Wasserkultur bis zur Fruchtreife.

Bei 0,02 % NaBr gelangten sie bis zur Blütenbildung, nur wenige Blüten aber erzeugten Samen. Meist fand ein Absterben der Pflanzen nach der Blütenbildung unter allmählichem Eintrocknen der Blätter statt.

Wurde 0,02 % NaJ zur Nährlösung zugesetzt, so fand gar keine Stoffzunahme an den eingesetzten Keimlingen statt, sie starben, bevor das erste Laubblatt entwickelt war.

Knop[1]) hat an Maispflanzen ebenfalls dargetan, daß Jodkalium weit schädlicher ist als Bromkalium.

Bariumsalze sind für niedere Pilze wie für Phanerogamen wenig giftig, während sie für Warmblüter sehr giftig sind.

Knop[2]) fand, daß Maispflanzen Bariumsalze ohne Schaden aufnehmen.

Niedere Pilze entwickeln sich in Nährlösungen, die Bariumsalze enthalten, sehr gut.

Über die Quantität, bei der eine Giftwirkung auf Keimlinge stattfindet, möge schließlich noch ein Wort hier Platz finden.

Nach den früheren Untersuchungen des Verfassers über „quantitative Giftwirkung“[3]) besteht eine quantitative Beziehung zwischen Gift und geschädigten Zellen, weil die Giftwirkung in einer chemischen Verbindung zwischen Gift und Protoplasmaprotein begründet ist. Das wurde besonders an Hefe nachgewiesen.

Dasselbe wird auch bei Keimlingen der Fall sein.

Man darf also nicht zu viele Samen zu einem Versuch anwenden.

Freilich kommt hier in Betracht, daß der Keimling schon verloren ist, wenn der Vegetationspunkt an der Wurzelspitze durch das Gift zerstört wurde. Dazu gehört verhältnismäßig wenig Gift.

Wir können also auch bei sehr verdünnten Lösungen (0,01 bis 0,001 %), wenn in die Keimschale etwa 50 ccm derselben gebracht werden, annehmen, daß 5 bis 10 Keimlinge durch das vorhandene Gift abgetötet werden, falls die Verdünnung noch wirksam ist.

---

[1]) Botan. Centralbl. 1885.

[2]) Botan. Centralbl. 22, 35.

[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. 111.

Gerade bei den Giften, die noch in großer Verdünnung wirken, ist auch eine verhältnismäßig recht kleine Giftquantität zur Abtötung bestimmter Mengen lebender Substanz nötig.

So fand Verfasser[1]), daß 0,001 bis 0,0025 g Kupfervitriol ausreicht zur Abtötung von 10 g Preßhefe.

Von Sublimat reicht 0,005 bis 0,01 g.

Von Silbernitrat ist 0,01 bis 0,02 g hinreichend.

Dagegen ist von Formaldehyd schon 0,025 bis 0,05 g erforderlich, ebenso von Schwefelsäure.

Von Fluornatrium ist 0,05 bis 0,1 g nötig, von Kobaltnitrat reicht 0,25 bis 0,3 g aus usw.

Dabei ist die Preßhefe, abgesehen von der einige Prozente betragenden Stärkebeimischung, ganz und gar aus selbständigen lebenden Einzelzellen zusammengesetzt, deren jede für sich abgetötet werden muß und keine von dem Absterben der anderen ungünstig beeinflußt wird (eher günstig durch Austreten der Nährsubstanz aus den abgestorbenen Zellen).

Nehmen wir an, das Gewicht der teilungsfähigen Zellen an jedem Vegetationspunkt + dem Gewicht der umgebenden, auch noch zur Wurzelspitze gehörigen Zellen betrage 1 mg, dann sind bei 100 Wurzelspitzen erst 0,1 g lebende Substanz abzutöten, und dazu genügt meist eine minimale Menge Gift (etwa 0,00001 bis 0,005 g!). So viel Gift ist in 50 ccm auch der sehr verdünnten Lösungen noch enthalten, daß 5 bis 10 Wurzelspitzen abgetötet werden können.

Kupfervitriol.

Dieses sonst als sehr giftig bekannte Schwermetallsalz soll in manchen Fällen das Wachstum begünstigen.

Nach Krüger[2]) verursacht Kupfersulfat 1 : 30000, das ist 0,003 ‰, eine Steigerung der Gärungstätigkeit der Hefe in den ersten 7 bis 8 Tagen.

Da die Gärtätigkeit von der Menge der Zymase und somit auch von der Menge der Hefezellen abhängt, so wird die erwähnte Tatsache vielleicht auf ein vermehrtes Wachstum der Hefe durch den Einfluß des Kupfervitriols zu deuten sein.

---

[1]) a. a. O., S. 372.

[2]) Centralbl. f. Bakt., Abt. II, 1.

Pozzi-Escot[1]) gibt ebenfalls an, daß Kupfervitriol eine wachstumfördernde Wirkung auf Hefe, Bakterien und ähnliche niedere Pflanzen hat.

Naegeli hat dasselbe bei Algen konstatiert.

Edwin Brown Fred[2]) hat bei nitrifizierenden Bakterien nur einen schädlichen Einfluß von Kupfervitriol (ferner Eisen- und Manganvitriol) konstatieren können, niemals eine Reizwirkung, während Äther und Schwefelkohlenstoff bei gewisser Verdünnung beschleunigend wirken. Auf B. pyocyaneus wirkt $CuSO_4$ nach demselben Forscher bei 1 : 100000 bis 1 : 10000000 wachstums-, d. h. vermehrungsbeschleunigend ein; ebenso auf Hefe bei 1 : 10000 bis 1 : 100000.

Wie verhalten sich nun Keimpflanzen von Phanerogamen gegen Kupfervitriol? Nach O. Loew und seiner Schule übt $CuSO_4$ darauf eine Reizwirkung aus.

Zunächst wurden Samen von Kresse (Lepidum sat.) geprüft.

Diese zum Teil überraschenden Resultate veranlaßten mich, über Kupfervitriol und dann auch über einige andere Schwermetallsalze noch weitere Beobachtungen zu machen.

Zwar ist diese enorme Giftigkeit des Kupfervitriols gegen Keimlinge nichts ganz vereinzelt Dastehendes.

Auch andere Organismen sind dagegen staunenswert empfindlich.

Kupfervitriol von 1:50000 tötet binnen 2 Tagen die Fadenalgen Cladophora, Spirogyra, Vaucheria, ferner Infusorien, Rädertierchen, Würmer, Insekten, Larven. Auch in Lösung 1:200000 sterben diese Organismen ab, wenn man genug Lösung und wenig Versuchszellen anwendet.

Spirogyren sind in ihren Chlorophyllapparaten so empfindlich gegen Kupfervitriol, daß schon nach 24 Stunden Absterbeerscheinungen sichtbar werden.

Fäulnis wird durch 1:100000 verhindert, nicht aber durch 1:500000.

Infusorien sterben in 0,1 $^0/_0$ Kupfervitriol augenblicklich unter Trübung ab.

In 0,01 $^0/_0$ leben die widerstandsfähigeren nur noch wenige Minuten weiter, dann stellen sie für immer ihre Bewegungen ein.

Weniger empfindlich scheinen manche Pilze zu sein; Bierhefe ist noch relativ stark empfindlich, wie folgender Versuch zeigt.

Preßhefe aus einer Brauerei blieb 5 Tage lang in 0,1 $^0/_0$iger Kupfervitriollösung (50 g Hefe auf 500 ccm Lösung) liegen.

---

[1]) Chem. Centralbl. 1.

[2]) Centralbl. f. Bakt. 21.

Kresse und Kupfervitriol.

Samen von Kresse in 0,5 %iger Kupfervitriollösung keimen gelassen	Kressen in 0,1 %iger Kupfervitriollösung	Kressen in 0,05 %iger Kupfervitriollösung	Kressen in 0,01 %iger Kupfervitriollösung	Kressen in 0,005 %iger Kupfervitriollösung	Kressen in 0,0025 %iger Kupfervitriollösung	Kontrollversuch mit Kresse
Nach 4 Tagen: Wurzel bis $1^1/_2$ mm lang. Kein Senfölgeruch. Stengel nicht hervorgetreten. Keimung nicht über Anfang hinaus.	Wurzel bis 2 mm lang. Stengel nicht hervorgetreten. Kein Senfölgeruch. Keimung nicht über Anfangsstadium hinaus.	Keimung meist weit zurück hinter Kontrollversuch; doch in einem Falle Wurzel 1,2 cm lang.	Keimung nur wenig hinter dem Kontrollversuch zurück. Senfölgeruch schwach.	Keimung ungefähr so weit vorgeschritten wie bei Kontrollversuch.	Wie Kontrollversuch.	Wurzel bis 1,25 cm, Stengel bis 0,5 cm lang. Intensiver Senfölgeruch.
Nach 6 Tagen:	Keimung geht nicht weiter.	Wurzel bis 1,2 cm, offenbar nicht weiter gewachsen.	Wurzel kurz geblieben, höchstens 1 cm lang. Stengel bis $1^1/_2$ cm, er hatte offenbar weniger gelitten.	Wurzel bis 4 cm, Stengel bis $1^1/_2$ cm. Kein erhebl. Unterschied gegen Kontrollversuch.	Wurzel bis $3^1/_2$ cm, Stengel bis 2 cm. Entwicklung also ungefähr gleich mit Kontrollversuch.	Wurzel bis 4 cm lang, Stengel bis 2 cm.
Nach 9 Tagen:	Keimung nicht weiter gegangen.	Keimung stehen geblieben; Wurzeln braun, abgestorben.	Wurzel kurz, bräunlich, meist abgestorben; Stengel weiter gewachsen, bis $2^1/_2$ cm lang.	Wurzel bis 8 cm, Stengel bis 4 cm. Wachstum voran gegen Kontrollversuch.	Wurzel bis 5 cm, Stengel bis 3 cm. Ungefähr gleich mit Kontrollversuch.	Wurzel bis 6 cm, Stengel bis 3 cm lang, geotropisch aufgerichtet.

Gerste und Kupfervitriol.

Gerste in 0,5 % Kupfervitriol gekeimt	Gerste in 0,1 % Kupfervitriol	Gerste in 0,05 % Kupfervitriol	Gerste in 0,01 % Kupfervitriol	Gerste in 0,005 % Kupfervitriol	Gerste in 0,0025 % Kupfervitriol	Gerste in 0,001 % Kupfervitriol	Kontrollversuch mit Gerste
Nach 4 Tagen: Nirgends Keimung eingetreten. Keimling getötet.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 1 cm lang, öfter gerade erst hervorbrechend, manchmal noch gar nicht sichtbar.	Nach 4 Tagen: Auf derselben Stufe wie Kontrollversuch.	Nach 4 Tagen: Auf derselben Stufe wie Kontrollversuch.	Nach 4 Tagen: Auf derselben Stufe wie Kontrollversuch.	Nach 4 Tagen: Auf derselben Stufe wie Kontrollversuch.	Verunglückt	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 1 cm lang, meist aber viel kürzer, oft gerade erst hervortretend.
Nach 6 Tagen: Keimung nicht eingetreten.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis $1^1/_2$ cm, meist nur $^1/_2$ cm; oberird. Teil bis $^3/_4$ cm. Wenig zurück.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 2 cm, oberird. Teil bis 1 cm. Annähernd gleich mit Kontrollversuch.	Nach 6 Tagen: Keimung gleichen Schritt mit Kontrollversuch haltend.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis $3^1/_2$ cm lang, Stengel bis 1 cm. Wurzel also voran gegen Kontrollversuch.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 5 cm, Stengel bis $1^1/_2$ cm. Keimung also voran.		Nach 6 Tagen: Wurzel bis 2 cm, oberird. Teil bis 1 cm.
Nach 9 Tagen: Keimung nicht eingetreten.	Nach 9 Tagen: Wurzel bis 2 cm, also bedeutend zurückgeblieben; Stengel bis 6 cm, aufgerichtet, offenbar nicht geschädigt.	Nach 9 Tagen: Wurzel bis $2^1/_2$ cm, also nun zurückgeblieben; Stengel bis 6 cm lang, nicht zurück.	Nach 9 Tagen: Wurzel bis 3 cm, also zurückgeblieben; Stengel bis 7 cm lang.	Nach 9 Tagen: Wurzel bis 8 cm, Stengel bis 6 cm lang. Keimung also jetzt ungefähr gleich mit Kontrollversuch.	Nach 9 Tagen: Wurzel bis 12 cm, Stengel bis 8 cm lang. Keimung voran gegen Kontrolllversuch.		Nach 9 Tagen: Wurzel bis 8 cm, Stengel bis 6 cm lang; letzterer nahezu senkrecht aufgerichtet, oben grasgrün.

Sie zeigte dann unter dem Mikroskop noch nicht immer ein vollkommen verändertes Aussehen. In vielen Hefezellen freilich war der Inhalt kontrahiert.

Es mußte allerdings ein Teil der Hefezellen abgestorben sein, weil schon am 3. Tage von untenher eine bräunliche Färbung in der Flüssigkeit aufgetreten war, was auf ein Austreten von färbenden Substanzen aus den Hefezellen gedeutet werden muß.

Das Gärvermögen war nach 5 Tagen noch erhalten.

Es wurde sowohl Rohrzucker als auch reiner Malzzucker kräftig vergoren.

Demnach sind auch die Enzyme Invertase und Glucase noch aktiv gewesen.

Nach 10 Tagen zeigte sich eine Haut auf der Kupfervitriollösung, welche aus lauter kleinen Hefezellen, die lebhaft sproßten, bestand.

Es gibt somit eine Hefenart, die bei Gegenwart von 0,1 % Kupfervitriol wächst und assimiliert.

In 0,05 %iger Kupfervitriollösung bildete sich binnen gleicher Zeit eine Haut, welche aus Bakterien bestand, die Hefezellen umsponnen hielten.

In 0,02 %iger Kupfervitriollösung entstand schon binnen 6 Tagen eine Pilzhaut; auch war die Flüssigkeit trübe von Bakterien.

Es besitzen somit einzelne Organismen gegen dieses sonst so starke Gift eine sehr erhebliche Widerstandskraft.

Assimilation, Wachstum und Zellteilung finden bei jenem Schimmelpilz noch bei Gegenwart von 1 % Kupfervitriol statt.

Weitere Beobachtungen; Einwirkung des Kupfervitriols und einiger anderer Schwermetallsalze auf die Keimung.

Die Prüfung geschah in der gewöhnlichen Weise durch Keimenlassen bei Gegenwart des betreffenden Salzes.

Kupfervitriol 1:100000: Nach 10 Tagen Gerste nicht gekeimt (schlechte Samen?).

Erbse in den ersten Keimungsstadien stehen geblieben; nur bei einem Exemplar Wurzel $1\frac{1}{2}$ cm lang geworden. Linsen nicht gekeimt.

Bei Centaurea cyanus Wurzel bis 1 cm lang geworden.

Bei Cosmea bipinnata hypokotyles Stengelglied bis 8 cm, Wurzel bis 3 cm lang geworden.

Kontrollversuch (mit Brunnenwasser): Oberirdischer Teil der Gerste nach 10 Tagen bis 17 cm lang geworden; Wurzeln bis 8 cm.

Linsen: Stengel bis 3 cm, Wurzeln bis $1^1/_2$ cm.

Erbsen: Stengel bis 10 cm, Hauptwurzel bis 7 cm lang.

Cosmea bipinnata: Hypokotyles Stengelglied bis 8 cm, Wurzel bis 7 cm lang geworden.

Blaukohl: Stengel bis 3 cm, Wurzel bis 3 cm lang.

Kupfervitriol 1:1000000: Nach 10 Tagen Gerste nicht gekeimt (schlechte Samen?).

Erbse über die ersten Keimungsstadien nicht hinausgekommen; meist gefault.

Linsen über das erste Stadium selten hinausgegangen; in einem Falle Wurzel $2^1/_2$ cm, Stengel $1^1/_2$ cm.

Centaurea cyanus: Wurzel bis $1^1/_2$ cm, oberirdischer Teil bis 2 cm.

Bei Cosmea bipinnata hypokotyles Stengelglied bis 7 cm Wurzel bis 5 cm.

Blaukohl meist nicht ausgekeimt.

Kupfervitriol 1:100000 und 1:1000000 ist also für viele Keimlinge schädlich, für keinen ein Mittel zur Beschleunigung der Keimung.

Weitere Verdünnungen, die vom Verfasser geprüft wurden sind folgende:

Kupfervitriol 1:1000. Die Keime von Erbsen, Linsen und Feuerbohnen sterben darin ab. Auf den abgestorbenen Samen entwickeln sich Schimmelpilze.

Kupfervitriol 1:2000. Erbsen und Linsen keimen zwar aus, die Wurzel stirbt aber ab, der Stengel wächst auf Kosten der im Samen aufgespeicherten Nährstoffe noch eine Zeitlang fort.

Kupfervitriol 1:10000: Erbsenkeimlinge und Linsenkeimlinge, insbesondere ihre Wurzeln bleiben im Wachstum zurück, so daß die Teile nach 14 Tagen kaum halb so lang sind wie beim Kontrollversuch.

Kupfervitriol 1:20000: Auch hier war noch einiges Zurückbleiben der Erbsen- und Linsenkeimlinge gegen den Kontrollversuch bemerkbar.

Kupfervitriol ist also für Keimpflanzen außerordentlich schädlich.

Eine Beschleunigung des Keimungs- und Wachstumsvorganges konnte bei keinem der 6 Versuche, bei denen Verdünnungen von 0,1 bis 0,0001 $^0/_0$ angewandt wurden, bemerkt werden (siehe auch folgende Tabelle).

Hingegen ist oben erwähnt worden, daß ein Keimungsversuch mit Gerste und 0,0025 $^0/_0$ Kupfervitriol eine Wachstumsbeschleunigung ergeben habe (siehe Tabelle auf S. 12), ebenso ein Keimungsversuch mit Kresse und 0,005 $^0/_0$ Kupfervitriol.

Verschiedene andere Samen und Kupfervitriol. Übersicht.

	Erbsen nach 10 Tagen	Linsen nach 10 Tagen	Centaurea cyanus nach 10 Tagen	Cosmea bipinnata nach 10 Tagen	Blaukohl nach 10 Tagen	Gerste nach 10 Tagen
Kontrollversuch	Hauptwurzel bis 7 cm, Stengel bis 10 cm.	Wurzel bis $1^1/_2$ cm, Stengel bis 3 cm.	Wurzel bis $1^1/_2$ cm, oberird. Hälfte bis 2 cm.	Wurzel bis 7 cm, hypokotyles Stengelglied bis 8 cm.	Stengel bis 3 cm, Wurzel bis 3 cm.	Wurzel bis 8 cm, oberird. Hälfte bis 10 cm.
Kupfervitriol 0,1 $^0/_0$	Stirbt ab, auf dem abgestorben. Samen kommt Schimmel (ebenso bei Feuerbohnen).	Stirbt ab, auf dem abgestorbenen Samen kommt Schimmel.	Keimt nicht aus.	Keimt nicht aus.	Keimt nicht aus.	Keimt nicht aus.
Kupfervitriol 0,05 $^0/_0$	Keimt zwar aus, Wurzel stirbt aber bald ab, Stengel wächst noch einige Zeit fort.	Wie Erbse.				
Kupfervitriol 0,01 $^0/_0$	Wurzel bleibt im Wachstum zurück (etwa um die Hälfte).	Wie Erbse.				
Kupfervitriol 0,005 $^0/_0$	Auch hier noch einiges Zurückbleiben zu bemerken.	Bleibt etwas zurück.				
Kupfervitriol 0,001 $^0/_0$	Zurückbleibend.	Zurückbleibend.	Wurzel bis 1 cm.	Wurzel bis 3 cm, hypokotyles Stengelglied bis 8 cm.		Gerste keimte nicht.

	Erbsen nach 10 Tagen	Linsen nach 10 Tagen	Centaurea cyanus nach 10 Tagen	Cosmea bipinnata nach 10 Tagen	Blaukohl nach 10 Tagen	Gerste nach 10 Tagen
Kupfervitriol 0,0001 %	Stengel bis $1^1/_2$ cm. Zurückbleiben.	Wurzel bis $2^1/_2$ cm, Stengel bis $1^1/_2$ cm. Fast gleich mit Kontrollversuch.		Wurzel bis 5 cm, hypokotyles Stengelglied bis 7 cm. Fast gleich mit Kontrollversuch.	Meist nicht ausgekeimt.	Nicht ausgekeimt.

Kupfervitriol ist demnach für die oben aufgeführten Keimpflanzen außerordentlich schädlich.

Sogar 0,0001 % wirkt noch etwas ungünstig auf diese.

Besonders tritt die Schädlichkeit bei der Gerste zutage, wo bei Gegenwart von 0,001 % und sogar nur 0,0001 % nicht einmal ein Auskeimen stattfindet.

0,1 % Kupfervitriol scheint in jedem Falle das Auskeimen der Samen zu hindern.

Diese Giftigkeit des Kupfervitriols gegen Keimpflanzen ist übrigens nicht beispiellos.

Verfasser hat gefunden, daß Kupfervitriol bei so hoher Verdünnung auch auf Algen und Infusorien noch schädlich, ja tödlich wirkt. Nur muß man die Menge der Kupfervitriollösung so groß nehmen, daß sämtliche lebenden Zellen davon ergriffen werden können; sonst stirbt nur ein Teil ab, die anderen leben weiter.

In den vorhin erwähnten Keimungsversuchen wurden durchweg 200 ccm Flüssigkeit angewendet. Beim Einlegen von nur wenigen Samen mag diese Menge wohl meist genügen, um alle Vegetationspunkte abzutöten.

Da die Samen oft mit Kupfervitriol gewaschen werden (wegen Anhaftens von Mikroorganismen), ist die Sache auch von praktischem Interesse.

Im Anschluß an das Kupfervitriol seien einige Versuche über Sublimat ($HgCl_2$) angeführt.

Das Quecksilber gehört mit dem Kupfer und Silber zusammen zu einer chemischen Gruppe von Elementen (Kupfergruppe). Dieselbe enthält die wirksamsten metallischen Gifte (Metallsalze) und übertrifft darin alle anderen Gruppen von Metallen bei weitem[1].

[1] Verfasser im Centralbl. f. Bakt. 25. Wirk. d. Metallsalze auf Hefe.

	Kresse nach 6 Tagen	Gerste nach 6 Tagen
Kontrollversuch (mit dest. Wasser).	Wurzel bis 6 cm, Stengel bis 4 cm lang. Von den ausgelegten 8 Samen waren 7 gekeimt.	Wurzel bis 6 cm, oberirdischer Teil bis 3 cm lang. Von den ausgelegten 3 Samen waren 2 gekeimt. Das ist ein relativ großer Prozentsatz von nicht keimfähig. Samen, der sich bei den folgenden Versuchen noch steigerte, manchmal sogar bis 100 %. Das ist also ungünstiges Samenmaterial gewesen (wiewohl frisch bezogen).
0,01 % Sublimat.	Wurzeln sämtlich sehr kurz, offenbar stark geschädigt, auch der Stengel kaum 1/2 bis 1 cm lang, also ebenfalls geschädigt.	Wurzeln sehr kurz, höchstens 1/2 cm lang; offenbar geschädigt. Oberirdischer Trieb (grüner, Nichtwurzelteil) normal entwickelt, bis 3 cm lang.
0,001 % Sublimat.	Wurzel bis 6 cm, Stengel bis 3 cm lang; Keimlinge also normal entwickelt, keine Beschleunigung zu bemerken.	Von 3 Gerstensamen keiner gekeimt (das lag wahrscheinlich nicht an dem Gift, sondern an den Samen selbst).
0,0005 % Sublimat.	Wurzel bis 9 cm, Stengel bis 4 1/2 cm lang. Deutliche Wachstumsbeschleunigung vorhanden.	Von 3 Gerstensamen keiner gekeimt (schlechte Samen).

Es ergibt sich, daß noch 0,01 % Sublimat für Keimlinge schädlich ist.

In 0,1 % erfahren die Wurzeln keine weitere Entwicklung und bleiben bald nach ihrem Hervorbrechen im Wachstum stehen.

Bei 0,001 % tritt normale Entwicklung ein.

0,0005 % Sublimat bewirkt eine Wachstumsbeschleunigung an den Kressenkeimlingen.

Bei Bierhefe wirkt 0,001 % Kupfersulfat tödlich, ebenfalls 0,001 % Silbernitrat; Sublimat von 0,001 % hindert die Fäulnis fäulnisfähiger Flüssigkeiten. Für Hefe ist Sublimat etwas weniger giftig, 0,01 % reicht noch aus zur Abtötung, 0,005 % nicht mehr.

Bleizucker ist für Hefe erst von 0,1 % an tödlich.

Eisenvitriol ist von 0,2 % an schädlich für Hefe.

Zinksalz vermag erst von 1 % an die Entwicklung der

Hefe ganz zu hindern; an diesem Resultat trägt aber wie beim Eisenvitriol zum Teil die Ausfällung von Zink (bzw. Eisenphosphat) aus der Nährlösung die Schuld[1]).

Gegen Cadmiumsalz ist die Hefe etwas empfindlicher; noch 0,025 % schadet.

Jedenfalls besteht meist ein großer Unterschied gegenüber den Salzen des Kupfers, Silbers, Quecksilbers, die als stärkste Metallgifte anzusehen sind.

Bei Keimlingen erweist sich Kupfervitriol als ungefähr ebenso schädlich wie Sublimat. Das Sublimat wirkt freilich bei noch größeren Verdünnungen.

Denn vom Sublimat schadet 0,01 % den Kressenkeimlingen, 0,0005 % fördert sie, 0,001 % ist gleichgültig. Bei Kupfervitriol und Kresse fand ich (siehe S. 11), daß 0,01 % schadet, 0,0025 % gleichgültig ist, 0,005 % fördert.

Beobachtungen über Mangansulfat und Keimlinge.

Mangansulfat 0,1 %: Nach 8 Tagen Gerstenkeimlinge (oberirdischer Teil) bis 12 cm hoch, Wurzeln bis 4 cm lang.

Bei Linsen oberirdischer Teil nach 8 Tagen bis 4 cm, Hauptwurzel ebenfalls bis 4 cm lang.

Bei Bohnen (Feuerbohnen) nach 8 Tagen oberirdischer Teil bis 4 cm, Hauptwurzel ebenfalls bis 4 cm lang.

Es war also mit 0,1 % Mangansulfat binnen 8 Tagen keine Förderung, aber auch keine Verzögerung zu bemerken (siehe Kontrollversuch).

Kontrollversuch (mit Brunnenwasser): Gerstenkeimlinge nach 8 Tagen in den oberirdischen Teilen bis 12 cm, in den Wurzeln bis 6 cm lang.

Bei Linsen die Hauptwurzel nach 8 Tagen bis 6 cm, der oberirdische Teil bis 5 cm lang.

An den Bohnen (Feuerbohnen) war die Hauptwurzel nach 8 Tagen bis 5 cm, der Stengel auch bis 5 cm lang.

Mangansulfat 0,05 %: Nach 8 Tagen oberirdische Teile der Gerstenkeimlinge bis 15 cm, Wurzeln bis 8 cm lang.

An den Linsen maß die Hauptwurzel nach 8 Tagen bis zu 7 cm, der Stengel bis 5 cm.

---

[1]) Verfasser im Centralbl. f. Bakt. 35.

Die Bohnen (Feuerbohnen) wiesen nach 8 Tagen eine Hauptwurzel bis zu 5 cm und einen Stengel bis zu 4 cm auf.

Gegen den Kontrollversuch wiesen die genannten Keimlinge auch in 0,05 $^0/_0$ Mangansulfat keine deutliche Begünstigung, sondern annähernde Gleichheit auf.

Weitere Versuche wurden an Erbsen, dann Kornblumen (Centaurea cyanus) und an Cosmea bipinnata ausgeführt.

Die Samen derselben wurden in verschieden starken Lösungen von Manganvitriol keimen gelassen.

Bei 1 $^0/_0$ Manganvitriol blieben die Erbsenkeimlinge binnen 8 Tagen im Anfangsstadium der Keimung stehen und starben ab. Die Keimlinge von Cosmea bipinnata keimten nur zum kleinen Teile etwas aus, die ausgekeimten blieben im Wachstum stehen und starben ab. Die Kornblumenkeimlinge keimten meist nicht aus, die wenigen ausgekeimten blieben gleich darauf in der Entwicklung stehen und starben ab.

1 $^0/_0$ Manganvitriol ist also für alle Keimlinge sehr schädlich und hält die Entwicklung auf, meist sterben sie binnen 8 Tagen ab.

Sogar 0,2 $^0/_0$ Manganvitriol wirkt noch häufig nachteilig.

Die Erbsen freilich entwickeln sich normal, bleiben binnen 8 Tagen hinter dem Kontrollversuch nicht zurück.

Die Keimlinge vom Cosmea bipinnata aber bleiben in dieser Zeit etwas gegen den Kontrollversuch zurück.

Auch die Kornblumenkeimlinge weisen nach 8 Tagen geringere Maße auf als die des Kontrollversuches.

In 0,5 $^0/_0$ Manganvitriol bleiben aber auch die Erbsenkeimlinge zurück gegen den Kontrollversuch und sterben dann binnen 8 Tagen ab.

Bei längerer als 8tägiger Versuchsdauer wirkt übrigens auch 0,2 $^0/_0$ Manganvitriol schädlich auf die Erbsenkeimlinge ein.

Ja sogar 0,1 $^0/_0$ Manganvitriol wirkt binnen 18 Tagen auf Erbsenkeimlinge etwas nachteilig ein und bewirkt, daß sie gegen den Kontrollversuch zurückbleiben.

Auch Linsenkeimlinge blieben binnen 18 Tagen in 0,1 $^0/_0$ Manganvitriol etwas gegen den Kontrollversuch zurück.

In 0,05 $^0/_0$ Manganvitriol aber zeigte sich bei Erbsen- und Linsenkeimlingen sogar binnen 18 Tagen keine schädliche Einwirkung. Dieselben waren gleich mit denen des Kontroll-

versuches. Eine Förderung des Wachstums ließ sich ebensowenig erkennen wie ein Zurückbleiben.

Da von dem Mangansulfat so vielfach eine fördernde Einwirkung auf das Wachstum von Blütenpflanzen berichtet wird, kann ich nur entweder annehmen, daß meine Versuche nicht lange genug gedauert haben, oder daß gerade die zu meinen Versuchen ausgewählten Keimlinge durch Mangansulfat nicht reizbar sind.

Das Mangansulfat wurde schon manches Mal als wachstumsbeschleunigend bei Blütenpflanzen beschrieben. Ich konnte bis jetzt keine Konzentration ausfindig machen, die binnen 18 Tagen eine Wachstumsbeschleunigung bei Keimpflanzen von Erbsen, Linsen, Bohnen usw. ergibt.

Auffällig erscheint, daß $1^0/_0$ige Mangansulfatlösung einen durchaus schädlichen Einfluß auf alle oben angeführten Keimlinge ausübt, während unter den Pilzen z. B. die Hefe große Mengen von Mangansulfat erträgt und von $1^0/_0$ Manganvitriol im Wachstum nicht gestört wird.

Sogar Infusorien ertragen die $1^0/_0$ige Lösung längere Stunden, manche sogar 24 Stunden. „Erst nach 1 Stunde bemerkte ich, daß die Bewegungen einiger Infusorien abnorm wurden; sie führten, ohne von der Stelle zu weichen, sich um ihre Achse drehend, langsam rollende und kreisende Bewegungen aus. Auch andere Mikroorganismen, Bakterien, kleine Schwärmer von $^1/_5$ der Infusoriengröße, lebten noch und bewegten sich. Nach 2 Stunden waren manche Infusorien abgestorben unter starker körniger Trübung, viele bewegten sich, ihren Platz nicht verlassend, nur noch schwach, einige noch sehr lebhaft und beliebig fortschreitend. Sogar nach 24 Stunden waren noch einige lebend und beweglich."

Bei Keimlingen wirkt, wie oben angegeben, sogar $0{,}1^0/_0$ Manganvitriol meist noch nachteilig, erst $0{,}05^0/_0$ Manganvitriol läßt eine ungestörte Entwicklung zu.

Dieser merkwürdige Unterschied gegenüber den Pilzen dürfte wohl auf die Wegnahme von Sauerstoff durch das Manganvitriol zurückzuführen sein, die in den Säften der Phanerogamenwurzeln, speziell an den Vegetationspunkten zustande kommt und dort Schaden stiftet.

Bei Hefe verursacht die Sauerstoffwegnahme, wenn sie dort

Tabellarische Zusammenstellung der Beobachtungen über Mangansulfat.

	Feuerbohne	Erbse	Linse	Clarkia	Cosmea bipinnat.	Centaurea cyan.	Gerste
Kontrollversuch (mit Brunnenwasser)	Nach 8 Tagen: Hauptwurzel bis 6 cm, oberird. Teil bis 5 cm lang.	Nach 8 Tagen: Hauptwurzel bis 7 cm, oberird. Teil bis 2 cm lang.	Nach 8 Tagen: Hauptwurzel bis 5 cm, oberird. Teil bis 10 cm lang.	Nach 8 Tagen: Verunglückt.	Nach 8 Tagen: Hauptwurzel bis 5 cm, hypokotyles Stengelglied bis 2 cm lang.	Nach 8 Tagen: Hauptwurzel bis $4^1/_2$ cm, hypokotyles Glied bis $1^1/_2$ cm lang.	Nach 8 Tagen: Oberird. Teil bis 10 cm, Wurzeln bis 2 cm lang.
Mangansulfat 1 %	Nach 8 Tagen: Hauptwurzel bis $1^1/_2$ cm, oberird. Teil bis 2 cm. Keimung also zurückgeblieben.	Nach 8 Tagen: Keimlinge im Anfangsstadium stehen geblieben, abgestorben.	Nach 8 Tagen: Keimlinge im erst. Stadium stehen geblieben, am Absterben.	Nach 8 Tagen: Verunglückt.	Nach 8 Tagen: Keimlinge selten etwas ausgekeimt, die ausgekeimten nun abgestorben.	Nach 8 Tagen: Keimlinge, wenn überhaupt ausgekeimt, sehr kurz, am Absterben.	Nach 8 Tagen: Gerste ausgekeimt, aber schwächlich, weit hinter Kontrollversuch zurück.
Mangansulfat 0,2 %	Bohnen nach 8 Tagen ziemlich kümmerlich entwickelt, hinter Kontrollversuch zurück.	Nach 8 Tagen: Hauptwurzel bis 6 cm, oberird. Teil bis 3 cm, Keimlinge also nicht zurückgeblieben.	Nach 8 Tagen: Keimlinge nur in den oberird. Teilen etwas zurückgeblieben.		Keimlinge nach 8 Tagen etwas zurück gegen den Kontrollversuch.	Nach 8 Tagen: Keimlinge zurückgeblieben gegen den Kontrollversuch.	Nach 8 Tagen: Ziemlich normal, Wurzeln 2 bis 3 cm, oberirdische Teile bis 12 cm lang.
Mangansulfat 0,5 %		Keimlinge bleiben zurück, sterben dann ab.	Keimlinge bleiben zurück, sterben dann ab.				
Mangansulfat 0,1 %		Nach 18 Tagen: Keimlinge etwas zurückgeblieben.	Nach 18 Tagen: Keimlinge etwas zurückgeblieben.				
Mangansulfat 0,05 %		Nach 18 Tagen: Keine Förderung gegen Kontrollversuch, gleiche Entwicklung.	Nach 18 Tagen: Keine Förderung gegen Kontrollversuch.				

in derselben Stärke stattfindet, keinen solch großen Schaden, weil sich die Hefe immer zunächst durch intramolekulare Atmung helfen kann.

An Rettich und Sojabohnen hat O. Loew[1]) gefunden, daß 0,02%ige Lösung von Mangansulfat einen wachstumsfördernden Einfluß ausübt.

Er gibt dafür folgende Erklärung:

Seit langem ist bekannt, daß Licht das Längenwachstum verlangsamt. Dieses bis jetzt nicht erklärte Phänomen bildet einen sonderbaren Gegensatz zu der intensiven chemischen Arbeit, die das Sonnenlicht in den Chlorophyllkörpern unter Mithilfe des lebenden Protoplasmas dieser Organoide verrichtet.

Es wird hier in ausgiebigstem Maße organischer Stoff fabriziert und doch zugleich die Verwendung desselben als Baustoff verhindert.

Abwesenheit von Licht bedingt somit dasselbe Resultat wie Anwesenheit von Mangan, nämlich Beförderung des Wachstums.

Es scheint somit, als ob in beiden Fällen ein Hindernis entfernt würde, das die Lichtstrahlen hervorruft, ein Hindernis, das vielleicht in der Erzeugung von gewissen schädlichen Stoffen in den Zellen unter dem Einfluß des Lichtes besteht.

Solche Hemmungsstoffe oder ‚Ermüdungsstoffe' existieren ja vielfach in den Gewächsen. Es ist nun wahrscheinlich die Rolle der Oxydasen, manche schädliche Nebenprodukte durch partielle Oxydation so zu verändern, daß sie keinen schädlichen Einfluß im größeren Maße ausüben können. Wenn in Abwesenheit des Lichtes nun die Bildung solcher Substanzen sistiert ist, so begreift sich, daß die Oxydasen jetzt ihrer Aufgabe leichter gerecht werden können, und daß die Funktion des Wachstums nicht weiter gehemmt wird.

Nun wird aber die Wirkung der Oxydasen durch Mangan gesteigert, und es ist deshalb möglich, daß sie nun die partielle Oxydation der Hemmungsstoffe ebenso rasch ausführen können, als diese gebildet werden. Da so der hemmende Einfluß des Lichtes aufgehoben ist, kann das Längenwachstum im Lichte ebenso fortschreiten als in der Dunkelheit. Diese Hypothese schließt natürlich nicht aus, daß andersartige Reizmittel aus einem etwas verschiedenen Grunde ebenfalls wachstumsbeschleunigend wirken können."

„Es dürfte vielleicht die Vermutung berechtigt sein, daß das Vorkommen leicht assimilierbarer Manganverbindungen einen nicht zu vernachlässigenden Faktor der natürlichen Fruchtbarkeit gewisser Böden bildet. Leider wird bei Bodenanalysen nur selten der Mangangehalt mitbestimmt, und Vergleiche der Zusammensetzung von Böden mit verschiedenem Grade natürlicher Fruchtbarkeit sind deshalb in dieser Richtung noch nicht möglich."

[1]) O. Loew, Allg. bot. Ztg. 1902.

Das Mangansulfat würde somit nicht zu den eigentlichen Reizstoffen gehören, sondern durch Zerstörung von „Ermüdungsstoffen" förderlich wirken.

In jüngster Zeit aber hat es C. Neuberg[1]) wahrscheinlich gemacht, daß Mangansulfat (ungefähr wie Eisensulfat) direkt wie ein Sensibilisator in die Stoffwechselvorgänge durch Lichtwirkung eingreifen kann.

Ich konnte, wie schon angegeben, einen fördernden Einfluß auf das Wachstum nicht konstatieren.

Vielmehr war ich, im Gegensatz zu meinen früheren Untersuchungen an Hefe, erstaunt über die relativ starke Giftigkeit des Mangansalzes gegen Phanerogamen.

Wenn also das Mangan praktisch zu landwirtschaftlichen Zwecken gebraucht werden sollte, müßte jedenfalls (wie auch bei anderen Reizmitteln) darauf geachtet werden, daß kein Schaden durch ein Übermaß entsteht.

Andererseits hören die Reizstoffe bei zu großer Verdünnung auf zu wirken. Es wird schwer sein, in der Praxis das richtige Maß zu treffen.

Zinkvitriol, $ZnSO_4 + 7H_2O$, ist merkwürdig wenig schädlich, viel weniger als Cd. sulfat.

In Zinkvitriollösung von 0,1 % war nach 2 Tagen Gerste zu 90 % gekeimt; Wurzel bis 20 mm lang, Keim bis 1 cm lang. Nach 3 Tagen noch etwas weitergewachsen, Keim bis 1 1/2 cm lang.

Die Entwicklung der Keimlinge glich der des Kontrollversuches.

In Zinkvitriol von 0,02 % keimte binnen 2 Tagen Gerste mit 90 %; Wurzel bis 20 mm lang, Keim bis 0,5 cm lang. Nach 3 Tagen Wurzel bis 2 1/2 cm lang, mit zahlreichen Wurzelhaaren, Keim bis 2 cm lang.

Das Wachstum der Keimlinge war nicht schwächer, aber auch nicht stärker als beim Kontrollversuch.

Linsensamen keimten in 0,1 %iger Zinkvitriollösung binnen 2 Tagen alle; Wurzel bis 1 cm lang, Keim bis 1/2 cm. Nach 3 Tagen noch etwas weitergewachsen.

---

[1]) C. Neuberg, Bezieh. des Lebens zum Licht. Monogr. Berlin 1913. (Enthält die Ergebnisse eigener und fremder Forschungen in lichtvoller Zusammenstellung, B.)

Keimung kaum zurück gegen den Kontrollversuch.

In 0,02 $^0/_0$iger Zinkvitriollösung keimten Linsensamen binnen 2 Tagen alle; Wurzel bis $1^1/_2$ cm lang, Stengel bis $^1/_2$ cm. Nach 3 Tagen Wurzeln bis 3 cm lang, Keime bis 1 cm.

Die Keimlinge waren denen des Kontrollversuches gleich.

Erbsen waren in 0,1 $^0/_0$iger Zinkvitriollösung binnen 2 Tagen zu 100 $^0/_0$ gekeimt; Wurzel bis 1 cm lang. Nach 3 Tagen Wurzel bis 2 cm lang.

Keimlinge mit dem Kontrollversuch gleich.

In 0,02 $^0/_0$iger Zinkvitriollösung keimten die Erbsen binnen 2 Tagen zu 100 $^0/_0$; Wurzel bis $1^1/_4$ cm lang. Nach 3 Tagen Wurzel bis $2^1/_2$ cm lang.

Keimlinge mit dem Kontrollversuche gleich.

Feuerbohnen keimten in 0,1 $^0/_0$iger Zinkvitriollösung ebenfalls gut; Wurzel binnen 2 Tagen bis 1 cm lang geworden. Nach 3 Tagen wenig weitergewachsen. Also doch eine schwache Verzögerung!

In 0,02 $^0/_0$ Zinkvitriol keimte die Feuerbohne ganz ebenso wie in 0,1 $^0/_0$; ein Unterschied war nach 2 Tagen nicht zu bemerken. Nach 3 Tagen beträchtlich weitergewachsen.

Keimlinge nach 3 Tagen gleich mit dem Kontrollversuch.

2 Tage alte Clarkia-Keime wuchsen weiter, als sie in 0,02 $^0/_0$ Zinkvitriol gebracht wurden; in 0,1 $^0/_0$ schienen sie zunächst nicht weiterzuwachsen.

In 0,5 $^0/_0$iger Zinkvitriollösung kommen Samen wie Erbsen, Linsen, Kohlsamen nicht über das erste Keimungsstadium hinaus.

Desgleichen in 1 $^0/_0$iger Zinkvitriollösung.

Dagegen erweist sich 0,1 $^0/_0$ und 0,02 $^0/_0$ Zinkvitriollösung nicht mehr als schädlich.

Versuche mit Manganvitriol haben, wie aus der obenstehenden Tabelle ersichtlich ist, ergeben, daß 0,5 $^0/_0$ und 1 $^0/_0$ für Keimlinge und den ganzen Keimungsvorgang schädlich sind, ebenso aber auch noch 0,1 $^0/_0$.

Das Mangansalz ist also in diesem Falle schädlicher wie Zinksalz.

Bei Hefe erschien mir die Giftigkeit des Zinksalzes allerdings auch nicht sehr groß.

Erst durch 1 % Zinksalzzusatz zur Nährlösung wird die Vermehrung der Hefe völlig gehindert, was freilich zum Teil auf die Ausfällung des Zinks durch die Phosphate der Nährlösung zurückzuführen sein mag.

Es würde besser sein, die Hefe zuerst einer reinen Zinkvitriollösung auszusetzen und dann den Vermehrungsversuch nach Auswaschen des Zinks zu machen.

Ähnliches gilt auch von dem Eisenvitriol, der aber (trotz der Ausfällung) für Hefe schon von 0,2 % an schädlich ist.

Phanerogamen können in einer Auflösung von 0,1 % Eisenvitriol über eine Woche lang lebend bleiben. Für Hefe liegt die tödliche Konzentration des Eisenvitriols zwischen 0,2 und 0,5 %. Es ist also auch hier nicht stark giftig.

Um das Eisenvitriol in seinem Verhalten gegen Keimlinge zu prüfen, wurden noch folgende Versuche aufgestellt:

	Kresse	Gerste
Kontrollversuch	Nach 4 Tagen Wurzel bis 5 1/2 cm, Stengel bis 2 cm lang.	Nach 4 Tagen Wurzel bis 5 cm lang, oberirdischer Teil bis 3 cm messend.
0,1 % Eisenvitriol	Nach 4 Tagen Wurzel bis 2 cm lang, meist viel kürzer, offenbar geschädigt; Stengel noch nicht hervorgetreten. Samenschalen blauschwarz geworden.	Nach 4 Tagen Wurzel bis 2 cm, oberirdischer Teil bis 1 cm lang.
0,02 % Eisenvitriol	Nach 4 Tagen Wurzel bis 5 cm lang, Stengel bis 2 1/2 cm lang. Keimlinge also nicht zurückgeblieben.	Nach 4 Tagen Wurzel bis 3 cm lang, oberirdischer Teil bis 3 cm lang. Wurzelwachstum ein wenig zurückgeblieben.

Nach dem Ausfall der eben beschriebenen Versuche muß man dem Eisenvitriol bei 0,1 %iger Konzentration eine hemmende bzw. schädigende Wirkung auf Keimlinge zuschreiben.

Die Gerstenkeimung wird nur verlangsamt, die Keimung der Kresse aber erheblich geschädigt, so daß im Verlaufe weiterer Tage ein Stillstand und Absterben der Keimlinge eintritt.

Eine Ausfällung der Eisensalze tritt hier nicht ein, wenigstens nicht außerhalb der Samen.

---

[1]) Verf. in Bakt. Centralbl. 35.

In der Samenschale der Kresse allerdings wird ein Teil desselben durch den vorhandenen Gerbstoff gebunden, so daß die Samenschalen eine blauschwarze Farbe annehmen. Dies tritt bei 0,1 $^0/_0$ ein, bei 0,02 $^0/_0$ nicht, ein Zeichen, daß die Gerbstoffreaktion bei dieser Verdünnung nicht mehr vor sich geht.

O. Loew zählt Eisenvitriol zu den schwächeren Metallgiften (Giftwirkung, Schwermetallsalze).

Das trifft auch auf meine Versuchspflanzen zu.

Daß übrigens nicht alle Pflanzen gleichempfindlich gegen Eisenvitriol sind, geht aus dem Verhalten der Gerste und der Kresse hervor.

Erstere wird durch 0,1 $^0/_0$ Eisenvitriol viel weniger geschädigt wie letztere.

0,02 $^0/_0$ Eisenvitriol ist für beide so gut wie unschädlich.

Cadmiumsulfat ($CdSO_4 \cdot {}^8/_3 H_2O$) scheint für Keimpflanzen beträchtlich giftiger zu sein als Zinkvitriol.

In 0,1 $^0/_0$ Cadmiumsulfat waren nach 2 Tagen nur ganz wenige der ausgelegten Gerstenkörner im ersten Keimungsstadium. In 0,02 $^0/_0$ Cadmiumsulfat war nach 2 Tagen Gerste zwar gekeimt, aber die Keimlinge blieben zurück, Wurzel bis höchstens 3 mm lang. Nach 3 Tagen war in beiden Fällen die Keimung nur wenig weitergediehen.

0,1 $^0/_0$ und 0,02 $^0/_0$ Cadmiumvitriol wirken offenbar schädlich auf die Keimung der Gerste ein.

Linsen waren in 0,1 $^0/_0$ Cadmiumsulfat nach 2 Tagen ebenfalls nur ganz wenig gekeimt; Wurzel bis 1 mm lang. In 0,02 $^0/_0$ befanden sich die meisten Linsen im ersten Keimungsstadium; Wurzel bis 2 mm lang. Nach 3 Tagen die Keimung in beiden Fällen etwas weiter, namentlich bei 0,02 $^0/_0$.

Eine Schädigung der Keimlinge war in beiden Fällen ersichtlich, bei 0,1 $^0/_0$ naturgemäß mehr als bei 0,02 $^0/_0$.

Erbsen scheinen durch Cadmiumsulfat weniger stark geschädigt zu werden als Gerste und Linsen.

Aber immerhin waren die Keimlinge zurück. In 0,1 $^0/_0$ Cadmiumsulfat Erbsenwurzel nach 2 Tagen bis 4 mm lang; in 0,02 $^0/_0$ ebenso. Nach 3 Tagen nur wenig weiter.

Die Erbsenkeimlinge sind zwar etwas weniger empfindlich gegen Cadmiumvitriol als Gerste und Linse, werden aber doch durch 0,1 $^0/_0$ und sogar 0,02 $^0/_0$ gehemmt.

Von den Feuerbohnen keimten in 0,1 % Cadmiumsulfat binnen 2 Tagen nur einzelne ganz schwach, ebenso von den Schnittbohnen. In 0,02 % Cadmiumsulfat waren die Wurzeln der Feuerbohnen und Schnittbohnen nach 2 Tagen doch schon bis 5 mm lang. Nach 3 Tagen Keimung noch etwas weiter.

Bohnen werden also durch 0,1 und 0,02 % geschädigt.

2 Tage alte Clarkia-Keime erfuhren einen Stillstand in ihrer Entwicklung, als sie in 0,1 %ige Cadmiumsulfatlösung gebracht wurden.

Auch hier zeigt sich wiederum die starke Giftigkeit des Cadmiumvitriols.

Cadmiumsulfat schädigt also die Keimung bei 0,1 % und auch noch etwas bei 0,02 %. Es übertrifft also den Zinkvitriol bedeutend an Giftigkeit.

Auch sonst wird über die größere Giftigkeit der Cadmiumsalze berichtet.

Für Milchsäurebacillen sind nach Richet[1]) Cadmiumsalze weit giftiger als Zinksalze.

Die Gärtätigkeit dieser Bacillen wird noch durch 0,015 % Cadmiumsalz verhindert.

0,1 % Zinksulfat aber wirkt noch nicht schädlich auf dieselbe ein.

Nach Knop[2]) sollen Cadmiumsalze bei Maispflanzen ungefähr gleichstehen an Giftigkeit.

Er fand bei 0,05 g pro Liter (also bei 0,005 %) giftig für Maispflanzen: Gold-, Silber-, Cobalt-, Zink-, Cadmium- und Thalliumsalze.

Blei- und Wismutsalze wirkten bei dieser Verdünnung zwar verzögernd auf das Wachstum der Keimlinge, die sonstigen Funktionen aber gingen ungestört vor sich.

Ich fand, wie oben angegeben, Zinksalze schon von 0,1 % an nicht mehr schädlich für Gerste, Linse; bei der Feuerbohne zeigte sich am 3. Tage eine kleine Verzögerung.

Ein Grund für die größere Schädlichkeit der Cadmiumsalze gegenüber den Zinksalzen läßt sich bislang nicht angeben.

---

1) Compt. rend. 114.
2) Botan. Centralbl. 22, 35.

In dem Atomgewicht liegt der Grund nicht, denn das Cadmium hat 111, das Zink 65, also treffen auf gleiches absolutes Gewicht mehr Zinkatome als Cadmiumatome.

Durch den Krystallwassergehalt (7 Mol. H_2O bei Zinkvitriol und $^8/_3\,H_2O$ bei Cadmiumvitriol) wird allerdings ein Ausgleich geschaffen, der aber nicht ausreicht.

Denn $ZnSO_4 + 7\,H_2O$ ist 287, $CdSO_4 + {}^8/_3\,H_2O$ ist 255. Das Molekulargewicht des Cadmiumvitriols ist also immer noch, wenn auch nur ein geringes, kleiner als das des Zinkvitriols.

Beobachtungen über chromsaure Salze.

Doppeltchromsaures Kali 0,01 %: Bohnenwurzel nach 8 Tagen kaum ½ cm lang, oberirdischer Teil noch nicht ausgekeimt.

Gerste in den ersten Anfängen der Keimung stehengeblieben, offenbar abgestorben.

Linsen meist gar nicht ausgekeimt.

Bei Cosmea bipinnata war die Wurzel bis 1½ cm lang geworden, der übrige Teil nicht gewachsen.

Bei Centaurea cyanus die Wurzel bis ½ cm lang, andere Teile nicht hervorgekommen.

Verschimmelung oder Fäulnis der Samen war trotz dieses Stillstandes in der Keimung nirgends eingetreten.

Also werden nicht bloß Keimlinge, sondern auch Pilze durch 0,01 % $Cr_2O_7K_2$ geschädigt.

Neutrales chromsaures Kali (gelbes, K_2CrO_4) hingegen wirkt bei Verdünnung 0,01 % und 0,02 % nicht schädlich auf Keimlinge.

CrO_4K_2 0,01: Nach 9 Tagen bei Gerstenkeimlingen oberirdischer Teil bis 11 cm, Wurzel bis 5 cm lang. Keimlinge hinter Kontrollversuch nicht deutlich zurück.

Bohne (Feuerbohne): Stengel bis 7 cm, Hauptwurzel bis 9 cm lang. Nicht zurück, Wurzel voran.

Linse: Stengel bis 5 cm, Hauptwurzel bis 10 cm lang. Nicht zurück.

CrO_4K_2 0,02 %: Nach 9 Tagen bei Gerste oberirdischer Teil bis 4 cm, Wurzel bis 6 cm lang. Keimlinge ziemlich gleich mit denen des Kontrollversuches.

Bohne: Stengel bis 10 cm, Hauptwurzel bis 8 cm lang. Nicht erheblich zurück.

Linse: Stengel bis 6 cm, Hauptwurzel bis $1^1/_2$ cm. Nicht zurück, außer in der Wurzelbildung.

Beim Kontrollversuch zu diesen Chromatversuchen (mit neutralem Salz) waren die Maße folgende (nach 9 Tagen):

Gerste: Oberirdischer Teil bis 13 cm, Wurzeln bis 6 cm.

Bohne: Stengel bis 7 cm, Hauptwurzel bis 5 cm.

Linse: Stengel bis $5^1/_2$ cm, Hauptwurzel bis $6^1/_2$ cm.

Gelbes chromsaures Kali ist also bei den genannten Verdünnungen nicht schädlich, bildet aber auch keinen deutlichen Wachstumsreiz für die bezeichneten Keimlinge. Denn die etwas stärkere Wurzelbildung bei Bohnen und Linsen nach 9tägigem Aufenthalt in 0,01 $^0/_0$iger Lösung von gelbem chromsaurem Kali kann wohl kaum mit Sicherheit so gedeutet werden und läßt auch eine Zufallserklärung zu.

Es ist übrigens nicht ausgeschlossen, daß das gelbe Chromat bei noch etwas größerer Verdünnung fördernd wirkt oder daß eine deutliche Begünstigung des Wachstums der Bohnen- und Linsenkeimlinge durch 0,01 $^0/_0$ K_2CrO_4 zustande gekommen wäre, wenn die Versuche noch länger ausgedehnt worden wären.

Das gleiche gilt von anderen giftigen Substanzen.

Das Kaliumbichromat oder rote chromsaure Kalium ist demnach ein ungemein starkes Gift für Keimlinge.

Es ist weit schädlicher für diese als das gelbe chromsaure Kali.

Letzteres wirkt meist bei 0,02 $^0/_0$ nicht mehr schädlich, während bei rotem chromsaurem Kali noch 0,001 $^0/_0$ schädlich sind.

In der Literatur finde ich diesen Unterschied nicht hervorgehoben.

O. Loew gibt an (Giftwirkungen, S. 16), daß neutrales chromsaures Natron auf Algen stark einwirkt und daß manche anaeroben Spaltpilze schon durch 0,05 $^0/_0$ getötet werden. Milzbrandbacillen kommen in Bouillon mit 0,05 $^0/_0$ nicht zur Entwicklung. Von Kaliumdichromat gibt derselbe Autor an, daß in 0,1 $^0/_0$ Algen binnen wenigen Stunden absterben. Wie hoch die Giftigkeitsgrenze liegt, ist nicht untersucht.

Vermutlich findet hier derselbe Unterschied statt wie bei Keimlingen.

Die chromsauren Salze gelten als Oxydationsgifte; sie

Tabellarische Zusammenstellung der Beobachtungen über chromsaure Salze.

	Bohnen	Erbsen	Linsen	Cosmea bipinn.	Centaurea cyan.	Gerste
Gelbes chromsaures Kali (CrO_4K_2) 0,1 %	Nach 8 Tagen: Keimlinge weit zurück hinter dem Kontrollversuch.	Nach 8 Tagen: Keimlinge, wenn überhaupt ausgekeimt, sehr kurz.	Nach 8 Tagen: Keimlinge sehr stark zurückgeblieben hinter dem Kontrollversuch.	Nach 8 Tagen: Keimlinge über den ersten Keimungsanfang hinaus.	Nach 8 Tagen: Keimlinge weit zurück hinter dem Kontrollversuch.	Nach 8 Tagen: Keimlinge weit hinter dem Kontrollversuch zurück, in der Wurzelbildung sehr beeinträchtigt.
CrO_4K_2 0,02 %	Nach 9 Tagen: Keimlinge ziemlich gleich mit denen des Kontrollversuches.		Nach 9 Tagen: Stengel nicht zurück geg d. Kontrollvers. Wurzel zurück.			Nach 9 Tagen: Keimlinge ziemlich gleich mit denen des Kontrollversuches.
CrO_4K_2 0,01 %	Nach 9 Tagen: Keimstengel nicht zurück, aber auch nicht deutlich vor gegen Kontrollvers., Wurzel voran.		Nach 9 Tagen: Stengel fast gleich mit Kontrollversuch, Wurzel voran.			Nach 9 Tagen: Keimstengel und -wurzel kaum zurückgeblieben gegen den Kontrollversuch.
Rotes chromsaures Kali ($K_2Cr_2O_7$) 0,01 %	Keimwurzel nach 8 Tagen weit zurück, oberirdischer Teil noch nicht da.		Keimlinge binnen 8 Tagen nicht hervorgetreten. Keimung weit zurück.	Nur die Wurzel nach 8 Tagen etwas hervorgetr. Keimung weit zurück.	Nur die Wurzel nach 8 Tagen schwach sichtbar. Keimlinge weit zurück.	Keimlinge bleiben in den ersten Keimungsanfängen stecken und sterben ab.
$Cr_2O_7K_2$ 0,0025 %		Kresse: Nach 6 Tagen: Wurzel nicht halb so lang als beim Kontrollvers., Steng. ebenfalls kürz. Keimung also etwas zurückgeblieben.				
$Cr_2O_7K_2$ 0,001 %		Auch hier nach 6 Tagen die Wurzel bedeutend kürzer als beim Kontrollvers. Keimung zurückgeblieben, hemmende Wirkung noch deutlich zu erkennen.				

wirken nach O. Loew giftig durch direkte Abtretung von Sauerstoffatomen an die Plasmaproteine. Das Bichromat scheint die Oxydation noch bei größerer Verdünnung zu vollziehen als das einfache Chromat.

Da das Goldchlorid für niedere Organismen meistens ziemlich stark giftig ist, wie ich früher sah[1]), so wendete ich auf Keimlinge nur die Verdünnungen 0,01 und 0,002 % an.

Das sind Konzentrationen, die bei starken Giften noch wirksam erscheinen.

Gerste keimte aber schon in 0,01 % Goldchlorid zu 100 % binnen 2 Tagen und so vorzüglich, daß eine schädliche Wirkung nicht zu sehen war; Wurzel bis 2 cm, Keime bis 1 cm lang. Nach 3 Tagen Keime bis 2 cm, Wurzel bis 3 cm lang, vielfach mit Wurzelhaaren versehen.

Gerste wird also durch 0,01 % nicht geschädigt.

Gerste in 0,002 % Goldchlrorid: Nach 2 Tagen Gerste zu 100 % gekeimt; Wurzel bis 2 cm, Keim bis 1½ cm lang. Nach 3 Tagen noch entsprechend weitergewachsen.

0,002 % sind also auch unschädlich, wie nach vorigem zu erwarten war.

Linsen in 0,01 % Goldchlorid: Nach 2 Tagen Wurzel bis 1 cm lang, 100 % der Samen gekeimt. Nach 3 Tagen Wurzel bis 1½ cm lang.

0,01 % sind für Linsen nicht schädlich.

Linsen in 0,002 % Goldchlorid: Nach 2 Tagen 100 % gekeimt, Wurzel bis 1½ cm lang. Nach 3 Tagen Wurzel bis 2 cm, Keim bis 1 cm lang.

Wie nach vorigem Versuch mit 0,01 % Goldchlorid zu erwarten steht, sind 0,002 % nicht nachteilig für Linsensamen.

Erbsen in 0,01 % in Goldchlorid: Nach 2 Tagen Wurzel bis 2 cm lang, 100 % gekeimt. Nach 3 Tagen Wurzel bis 3 cm lang.

Auch bei Erbsen erweist sich also Goldchlorid von 0,01 % nicht nachteilig.

Erbsen in 0,002 % Goldchlorid: Nach 2 Tagen Wurzel bis 1½ cm lang, 100 % gekeimt. Nach 3 Tagen Wurzel bis 3 cm lang.

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. 1912.

Wie zu vermuten, ist also auch bei 0,002 % Goldchlorid keine nachteilige Wirkung ersichtlich.

Feuerbohnen in 0,01 % Goldchlorid: Nach 2 Tagen von 5 Bohnen eine gekeimt. Nach 2 Tagen Wurzel bis 1/2 cm lang. Nach 3 Tagen Wurzel bis 1 cm lang.

Hier liegt wahrscheinlich schlechtes Samenmaterial vor.

Feuerbohnen in 0,002 % Goldchlorid: Nach 2 Tagen eine von 3 Bohnen gekeimt. Nach 2 Tagen Wurzel 1 cm lang. Nach 3 Tagen Wurzel bis 1 1/2 cm lang.

Auch hier ist wohl schlechtes Material an dem ungünstigen Ausfall schuld.

Schnittbohnen in 0,01 % Goldchlorid: Nach 2 Tagen alle gekeimt; Wurzel bis 1 cm lang. Lösung violett geworden. Nach 3 Tagen Wurzel bis 2 1/2 cm lang.

Schädlichkeit ist vorhanden.

Schnittbohnen in 0,002 % Goldchlorid: Nach 2 Tagen alle gekeimt; Wurzel bis 1 1/2 cm lang. Nach 3 Tagen Wurzel bis 2 1/2 cm lang.

Eine schädliche Wirkung ist nicht ersichtlich.

2 Tage alte Clarkia-Keime wuchsen weiter, als sie in 0,01 % und 0,002 % Goldchloridlösung gebracht wurden.

Kontrollversuch: Nach 2 Tagen Erbsenwurzel bis 1,8 cm lang, Gerstenwurzel bis 2 cm, Linsenwurzel bis 1 1/2 cm, Feuerbohnenwurzel bis 1/2 cm, Schnittbohnenwurzel bis 2 1/2 cm lang.

Weder 0,01 % noch 0,002 % Goldchlorid scheint eine schädliche Wirkung auf die Keimung zu äußern.

Demnach gehört Goldchlorid nicht zu den sehr starken Metallgiften, wie es Kupfervitriol und Sublimat sind.

Tabelle zu Goldchlorid und Keimlingen.

	Gerste	Erbse	Linse	Feuerbohne	Weiße Bohne
Goldchlorid 0,01 %	Unschädlich für die Keimung.	Unschädlich.	Unschädlich.	Versuch mißlungen wegen schlechten Samenmaterials.	Unschädlich.
Goldchlorid 0,002 %	Unschädlich.	Unschädlich.	Nicht nachteilig.	Wie bei 0,01 %.	Unschädlich.

Verschiedene Salpeterarten.

	Bohnen	Erbsen	Linsen	Blaukohl	Gerste
Kontrollversuch	Samen nach 4 Tagen eben die Wurzel bis 4 mm Länge vorschiebend. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 4 cm, oberird. Teil bis 4 cm lang.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis $2\frac{1}{2}$ cm, Keim bis $\frac{3}{4}$ cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 6 cm, oberird. Teil bis 5 cm lang.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 3 cm, oberird. Teil bis $\frac{1}{2}$ cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 10 cm, oberird. Teil bis 6 cm lang.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis $1\frac{1}{2}$ cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 8 cm, oberird. Teil bis 6 cm lang.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 2 cm, Keim bis $\frac{1}{2}$ cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 11 cm, oberird. Teil bis 13 cm lang.
Calciumsalpeter 2%	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 2 cm lang, Keim nicht hervorgetreten. 2% offenbar schädlich.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 1 cm, oberird. Teil bis 1 cm lang. Lösung offenbar schädlich.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 6 mm, Keim bis 3 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel kaum gewachsen, Keim bis 2 cm lang. Lösung schädlich.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 2 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 1 cm, oberird. Teil bis 1 cm lang. Lösung schädlich.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 5 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis $1\frac{1}{2}$ cm, oberird. Teil bis $1\frac{1}{4}$ cm lang. Lösung schädlich.
Calciumsalpeter 1%	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 2 cm, oberird. Teil bis $2\frac{1}{2}$ cm lang. Keimlinge etwas zurück gegen Kontrollversuch.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 2 cm, Keim bis 2 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 6 cm, oberird. Teil bis 2 cm lang. Wenig zurückgeblieben.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 2 cm, oberird. Teil bis $\frac{1}{2}$ cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis $2\frac{1}{2}$ cm, oberird. Teil bis $2\frac{1}{2}$ cm lang. Etwas zurückgeblieben.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 2 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 1 cm lang. Zurückgeblieben.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 1 cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis $2\frac{1}{2}$ cm, Keim bis 13 cm lang. Wurzel hat etwas gelitten, Keim nicht.
Calciumsalpeter 0,1%	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 1 cm, oberird. Teil bis 1 cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 2 cm, oberird. Teil bis $2\frac{1}{2}$ cm lang. Noch ein wenig zurück gegen Kontrollversuch.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 2 cm, Keim bis $\frac{1}{2}$ cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 6 cm, oberird. Teil bis 7 cm lang. Ungefähr gleich mit dem Kontrollversuch.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 3 cm, oberird. Teil bis $\frac{1}{2}$ cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel b. $8\frac{1}{2}$ cm, Keim bis 6 cm lang. Fast gleich mit dem Kontrollversuch.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 1 cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 5 cm, Keim bis 7 cm lang. Fast gleich mit dem Kontrollversuch.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis $2\frac{1}{2}$ cm, Keim bis 1 cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 10 cm, oberird. Teil bis 14 cm lang. Ungefähr gleich mit dem Kontrollversuch.

	Bohnen	Erbsen	Linsen	Blaukohl	Gerste
Magnesiumsalpeter 0,1 %	Nach 4 Tagen: Ungekeimt.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis $1^1/_2$ cm, Keim bis 2 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 5 cm, Keim b. 9 cm lang; alles sehr kräftig. Mit d. Kontrollversuch mindestens gleich.	Nach 4 Tagen: Wurzel hervortretend, bis $^1/_2$ cm, Keim bis 3 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 4 cm, oberird. Teil bis 5 cm lang. Etwas zurück.	Nach 4 Tagen: Noch keine Keimung ersichtlich.	Nach 4 Tagen: Keimung beginnend, Wurzel bis $^1/_2$ cm, Keim bis $1^1/_2$ cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 1 cm, oberird. Teil bis 20 cm lang. Mit Kontrollvers. ungefähr gleich.
Magnesiumsalpeter 1 %	Nach 4 Tagen: Ungekeimt. Nach 8 Tagen: Nicht vorgeschritten. 1 % Magnesiumsalpeter offenbar schädlich.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 mm, Keim b. 2 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel nicht länger geworden, Keim in einem Falle $2^1/_2$ cm lang geworden. Lösung schädl.	Nach 4 Tagen: Wurzel kaum heraus. Nach 8 Tagen: Kein Fortschritt bemerkbar. Lösung schädlich.	Nach 4 Tagen: Keine Keimung. Nach 8 Tagen: Auch keine Keimung. Lösung schädlich?	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 1 mm lang, Keim nicht heraus. Nach 8 Tagen: Kein Fortschritt.
Kaliumsalpeter 1 %	Nach 4 Tagen: Ungekeimt. Nach 5 Tagen: Ebenso. Der Kaliumsalpeter ist bei dieser Konzentr. offenbar sehr schädl.	Nach 4 Tagen: Wurzel noch kaum sichtbar. Nach 5 Tagen: Ebenso. Lösung schädlich.	Nach 4 Tagen: Keimung noch kaum begonnen. Nach 5 Tagen: Ebenso. Lösung schädlich.	Nach 4 Tagen: Keimung zurück. Lösung schädlich.	Nach 4 Tagen: Wurzel eben hervortretend. Nach 5 Tagen: Ebenso. Lösung schädlich.
Kaliumsalpeter 0,1 %	Nach 4 Tagen: Ungekeimt.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 mm lang.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis $^1/_2$ cm, oberird. Teil bis 4 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 3 cm, oberird. Teil bis $2^1/_2$ cm lang. Lösung offenbar hemmend.	Nach 4 Tagen: Wurzel 1 mm lang. Nach 8 Tagen: Kein Fortschritt.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Keim 1 cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 2 cm, Keim bis 16 cm lang. Wurzel zurückgeblieben.
Natriumsalpeter 1 %	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 1 cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 2 cm, oberird. Teil bis 1 cm lang. Keimung zurückgeblieben.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis $1^1/_2$ cm, Keim bis 3 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis $2^1/_2$ cm, oberird. Teil bis 2 cm lang. Zurückgeblieben gegen Kontrollversuch.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis $^1/_2$ cm, Keim bis 2 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 2 cm, oberird. Teil bis $1^1/_2$ cm lang. Zurückgeblieben.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis $^1/_2$ cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 2 cm, oberird. Teil bis $1^1/_4$ cm lang. Zurückgeblieben.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Keim bis 1 cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis $1^1/_4$ cm, oberird. Teil bis 10 cm lang. Wurzel also kaum mehr weitergewachsen.

	Bohnen	Erbsen	Linsen	Blaukohl	Gerste
Natrium-salpeter 0,1 %	Nach 4 Tagen: Wurzel noch nicht hervortretend. Nach 8 Tagen: Nicht gekeimt (Samen nicht keimfähig).	Nach 4 Tagen: Wurzel bis $1^1/_2$ cm, Keim bis 1 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 6 cm lang, sehr kräftig; oberird. Teil bis 7 cm lang, sehr kräftig.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Keim bis 4 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 8 cm, oberird. Teil bis 6 cm lang. Annähernd gleich mit dem Kontrollversuch.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 2 mm, Keim bis 1 mm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 2 cm, oberird. Teil bis 8 cm lang. Wurzel zurückgeblieben.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis $^3/_4$ cm, Keim bis 2 cm lang. Nach 8 Tagen: Wurzel bis 9 cm, oberird. Teil bis 20 cm lang. Gleich mit dem Kontrollversuch.
Ammon-salpeter 1 %	Nach 4 Tagen: Wurzel noch nicht heraus. Nach 5 Tagen: Ebenso. Die Keimung wird also verhindert.	Nach 4 Tagen: Ungekeimt. Nach 5 Tagen: Ebenso. Keimung verhindert.	Nach 4 Tagen: Ungekeimt. Nach 5 Tagen: Ebenso.	Nach 4 Tagen: Ungekeimt. Nach 5 Tagen: Ebenso.	Nach 4 Tagen: Ungekeimt. Nach 5 Tagen: Ebenso.
Ammon-salpeter 0,1 %	Nach 4 Tagen: Ungekeimt. Nach 5 Tagen: Noch nicht gekeimt.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 mm lang, Keim noch nicht da. Nach 5 Tagen: Wurzel bis 5 mm lang. Keimung stark beeinträchtigt.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 3 mm, Keim bis 3 mm lang. Nach 5 Tagen: Wurzel bis 3 mm, Keim bis 4 mm lang. Keimung stark beeinträchtigt.	Nach 4 Tagen: Wurzel 1 mm lang. Nach 5 Tagen: Ebenso.	Nach 4 Tagen: Keimung kaum beginnend. Nach 5 Tagen: Ebenso.
Ammon-salpeter 0,02 %	Nach 8 Tagen: Keine Förderung gegenüber dem Kontrollversuch zu erkennen.				
Natrium-salpeter 0,02 %	Nach 8 Tagen: Keimpflanzen nicht größer als beim Kontrollversuch.				
Kali-salpeter 0,02 %	Nach 8 Tagen: Keimpflanzen nicht größer als beim Kontrollversuch, eher etwas zurückgeblieben.				
Magnesium-salpeter 0,02 %	Nach 8 Tagen: Keine Förderung gegenüber dem Kontrollversuch zu erkennen.				

Eine ausgesprochene Förderung des Wachstums konnte bei den beschriebenen Versuchen mit verschiedenen Salpeterarten binnen 8 Tagen nicht wahrgenommen werden.

Freilich nach weiteren 8 Tagen (also nach 14 Tagen) kann bei Pflanzen, die ihre Kotyledonen nun schon ausgesaugt haben, unter Umständen eine Förderung eintreten, indem nun eine Stickstoffernährung durch den dargebotenen Salpeter, daneben auch Kalkernährung und dergleichen, eintritt. So bei Calciumnitrat 0,1 %, wo nach 14 Tagen die Kontrollpflanzen in Wachstum und Pilzwiderstandsfähigkeit bedeutend überholt erscheinen[1]). Bei den Kontrollpflanzen fehlt eben die nun notwendige gewordene Ernährung von außen.

Sehr merkwürdig ist die Schädigung der Keimlinge durch relativ starke (1 bis 2 %) Konzentrationen anderer Salpeterarten als Calciumsalpeter. So wirkt Kaliumsalpeter von 1 % stark hindernd auf die Keimung von Linse, Erbse, Bohne, Gerste; sogar 0,1 % erweist sich noch als hemmend. Bei 1 % schadet übrigens sogar Calciumsalpeter ein weniges, noch weit mehr aber Magnesiumsalpeter und zum Teil sogar Natriumsalpeter. Außerordentlich schädlich ist Ammonsalpeter, der bei 1 % die Keimung aller genannten Samen binnen 8 Tagen verhindert, bei 0,1 % stark hemmt.

Diese Dinge sind bei Salpeterdüngung wohl zu beachten. Schon lange wenden die Pflanzenphysiologen zu Nährlösungen für Keimlinge mit Vorliebe den Calciumsalpeter in der Verdünnung 0,05 bis 0,1 % an. Mit Recht!

Ammonsalpeter wirkt nicht bloß in der Konzentration 1 %, sondern auch 0,25 %, ja sogar 0,1 % schädlich auf den Keimungsvorgang und das weitere Wachstum ein (bei Kresse, Weizen, Gerste, Wicke usw.).

Das liegt an dem Ammoniak, d. i. an der Base dieses Salzes; denn auch schwefelsaures Ammon benachteiligt von 0,1 % an das Wachstum der Keimlinge (Gerste und Kresse usw.) und ihr späteres Gedeihen.

---

[1]) Da mitunter schon nach 3 Tagen eine Überholung des Kontrollversuches eintritt, mag ja eine Reizwirkung bis zu einem gewissen Grade mitspielen.

Dessen muß man bei Düngung mit Ammonsalzen eingedenk sein. Man darf keine erhebliche Konzentration dieses Stickstoffdüngers eintreten lassen.

Daß bei Anwendung von 1 °/₀ Magnesiumsulfat das Wachstum der Keimlinge (Bohnen-) ziemlich stillsteht und die Keimlinge schließlich eingehen, wurde schon vor kurzem mitgeteilt[1]); ebenso daß bei 2 °/₀ Magnesiumsulfat die Pflanzen noch rascher eingehen.

Ammoniak und nahestehende Substanzen:

Das freie Ammoniak (eigentlich Ammoniumhydroxyd) ist hinsichtlich seiner großen Schädlichkeit für Pflanzen von dem Verfasser schon vor einiger Zeit geschildert worden (Centralbl. f. Bakt. 32, 589).

Damals fand ich, daß die Keimung der Kresse schon durch recht geringe Mengen freien Ammoniaks unterdrückt wird.

Da die giftig oder schädlich wirkenden Stoffe nach einer in der Literatur oft wiederkehrenden Ansicht bei gewissen großen Verdünnungen wachstumsfördernd wirken sollen, stellte ich noch einige auf diesen Punkt gerichtete Versuche auf.

Zugleich wurden auch Versuche mit einer anderen starken Base (Natriumhydroxyd) aufgestellt, um einen Vergleich ziehen zu können.

Da das Natriumhydroxyd an der Luft rasch Kohlensäure anzieht, verschaffte ich mir zunächst ganz frisches carbonatfreies Ätznatron.

Bei 0,1 °/₀ NaOH unterblieb die Keimung der Kresse und anderer Samen nicht, sondern erfolgte ungefähr ebenso intensiv wie beim Kontrollversuch.

Bei 0,05 °/₀ NaOH trat sogar eine Beschleunigung ein, namentlich bei Gerste. Der Versuch mit 0,01 °/₀ unterschied sich gar nicht von dem Kontrollversuch.

Also haben wir es hier mit keinem sehr schädlichen Stoff zu tun. Daß größere Konzentrationen schädlich wirken, liegt an der Basizität derselben.

---

[1]) Bokorny, Einw. von Alkalisalzen . . . . auf grüne Pflanzen. Diese Zeitschr. 1912.

Ammoniak, Hydroxylamin, Kali und Natron.

Einige Alkalisalze.

	Kressenkeimung	Bemerkungen
Kontrollversuch in Brunnenwasser	Nach 60 Stunden: Wurzel bis 3 cm lang, hypokotyles Stengelglied bis 1 cm lang. Nach 5 Tagen: Wurzel bis 10 cm, hypokotyles Glied (Stengel) bis 4 cm lang.	
Ammoniak von 0,05 %	Nach 60 Stunden: Wurzel höchstens 0,3 cm, hypokotyles Glied nirgends sichtbar. Nach 5 Tagen: Kein Fortschritt zu bemerken, Keime tot.	0,05 % Ammoniak können Kressenkeimlinge nicht ertragen, sie sterben ab.
Ammoniak von 0,01 %	Nach 60 Stunden: Wurzel bis 1,5 cm lang, hypokotyles Glied bis 0,5 cm. Nach 5 Tagen: Wurzel bis 5 cm, hypokotyles Glied bis 2,5 cm. Keimlinge etwas zurückgeblieben.	Durch 0,01 % Ammoniak wird also die Kressenkeimung recht merklich verzögert.
Ammoniak von 0,0025 %	Nach 8 Tagen: Keine Förderung ersichtlich, eher eine Schädigung gegenüber dem Kontrollversuch noch bei 0,0025 %.	

Es konnte also bis jetzt beim Ammoniak keine Konzentration aufgefunden werden, bei welcher eine Förderung des Keimungsvorganges stattfindet.

Hingegen ist sehr bemerkenswert, daß das Ammoniak noch bei 0,01 % die Keimpflanzen merklich schädigt.

Um dies ganz sicherzustellen, nahm ich noch ein paar Versuche mit größeren Verdünnungen als 0,0025 % vor, nämlich mit 0,001 % und 0,0005 % Ammoniak, und fand, daß bei letzteren beiden minimalen Ammoniakzugaben kein Unterschied gegenüber dem Kontrollversuch zu bemerken war.

	Kresse	Gerste
Kontrollversuch	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel bis ¾ cm lang. Nach 5 Tagen: Wurzel bis 8 cm, Stengel bis 3 cm lang.	Nach 3 Tagen: Nicht gekeimt (schlechter Samen?). Nach 5 Tagen: 1 Samen gekeimt, Wurzel bis 1½ cm lang.

	Kresse	Gerste
Hydroxylamin (salzsaures) 0,1 %	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1/4 cm lang, Stengel nicht hervorgetreten. Nach 5 Tagen: Kein bemerkenswerter Fortschritt. Keimlinge abgetötet.	Nach 3 Tagen: Nicht gekeimt. Nach 5 Tagen: Nicht gekeimt.
Hydroxylamin (salzsaures) 0,01 %	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 2 cm lang, Stengel bis 1/2 cm. Nach 5 Tagen: Wurzel bis 3 cm, Stengel bis 1 1/2 cm lang. Keimlinge zurück gegen den Kontrollversuch.	Nach 3 Tagen: Wurzel 1 cm lang in einem Falle, sonst meist erst hervorspitzend. Nach 5 Tagen: Wurzel bis 3 1/2 cm, oberird. Teil bis 1 1/2 cm lang. Keimung voran(?) gegen Kontrollversuch.
Hydroxylamin (salzsaures) 0,0025 %	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 2 cm, Stengel bis 1/2 cm lang. Nach 5 Tagen: Wurzel bis 3 cm, Stengel bis 2 1/2 cm lang. Keimlinge noch etwas zurück gegen den Kontrollversuch.	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1 1/2 cm, oberird. Teil bis 1/2 cm lang. Nach 5 Tagen: Wurzel bis 5 1/2 cm, oberird. Teil bis 5 cm lang. Keimung voran(?) gegen Kontrollversuch.

Bei Hydroxylamin erscheint mir's nach den bisherigen Versuchen zweifelhaft, ob bei 0,01 % bis 0,0025 % Förderung eintritt.

Jedenfalls wirkt bei manchen Keimlingen 0,01 % noch schädlich.

Kaliumhydroxyd: Um möglichst reine carbonatfreie Lösungen zu erhalten, wandte ich frische, schön krystallisierte Kalistangen an und bereitete damit die Lösungen.

Das Kaliumhydroxyd gilt als stärkste unter den gebräuchlichen Basen; doch wirkt es auf Keimlinge weniger schädlich als Ammoniak, wie folgende Versuche zeigen.

	Kresse	Feuerbohne	Gerste
Kontrollversuch	Nach 60 Stunden: Wurzel bis 3 cm lang, Stengel bis 1 cm.	Nach 60 Stunden: Wurzel bis 8 mm lang.	Nach 60 Stunden: Wurzel bis 1 cm lang.
Kaliumhydroxyd 0,1 %	Nach 60 Stunden: Zu 90 % gekeimt, Keimlinge etwas zurückgeblieben.	Nach 60 Stunden: Keimlinge etwas zurückgeblieben.	Nach 60 Stunden: Zu 40 % gekeimt, Keimlinge etwas zurückgeblieben

	Kresse	Feuerbohne	Gerste
Kaliumhydroxyd 0,5 $^0/_0$	Keimte nicht aus.	Keimte zu 50 $^0/_0$ aus, Keimung schritt aber langsam fort.	Keimte nicht aus.
Kaliumhydroxyd 0,01 $^0/_0$	Nach 60 Stunden: Wurzel bis 2 bis 3 cm lang; ein Unterschied gegen den Kontrollversuch zeigte sich nicht.	Nach 60 Stunden: Keine Überholung des Kontrollversuches.	Nach 60 Stunden: Kein merklicher Unterschied gegen den Kontrollversuch.

Es ist hieraus ersichtlich, daß die Schädlichkeit des Kalis relativ gering ist; sogar bei 0,5 $^0/_0$ keimten die Bohnensamen noch aus, freilich langsam.

Bei 0,01 $^0/_0$ ist kein Unterschied gegen den Kontrollversuch wahrzunehmen; keine Hemmung und keine Förderung tritt ein.

Versuche mit Natriumhydroxyd ergaben, daß 0,1 $^0/_0$ die Keimung der Kresse nicht einmal zu verlangsamen, geschweige denn zu unterdrücken vermag.

Bei 0,05 $^0/_0$ Natriumhydroxyd war sogar einige Beschleunigung und Förderung des Keimungsvorganges zu bemerken, namentlich bei der dem Versuch beigemengten Gerste.

Ein Versuch mit 0,01 $^0/_0$ Natriumhydroxyd unterschied sich gar nicht von dem Kontrollversuch.

Ammoncarbonat hat ebenfalls alkalische Reaktion und sei deswegen hier angeführt.

Das Ammoncarbonat erweist sich also schon von 0,1 $^0/_0$ an als unschädlich für Keimlinge. 0,5 $^0/_0$ verhindert die Keimung der meisten Samen. Bei denen, die auskeimten (Kresse, Hanf), trat nachher Stillstand ein; nach 8 Tagen waren die Samen mit Fäulnismassen bedeckt. Die Samen mit 0,1, 0,05 und 0,025 $^0/_0$ Ammoncarbonat zeigten nach 12 Tagen noch eine völlig normale Entwicklung.

Recht merkwürdig sind die mit freiem Ammoniak erhaltenen Keimungsresultate.

Warum wirkt Kalium- und Natriumhydroxyd nicht ebenso schädlich?

Ammon-carbonat	Erbse	Bohne	Weizen	Gerste	Kresse	Hanf	Wicke
0,5 %	Nach 4 Tagen: Nicht gekeimt.	Nach 4 Tagen: Nicht gekeimt.	Nach 4 Tagen: Nicht gekeimt.	Nach 4 Tagen: Nicht gekeimt.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 0,5 cm lang.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 0,5 cm lang.	Nach 4 Tagen: Keine Keimung.
0,25 %	Binnen 4 Tagen: Einige Erbsen gekeimt.	do.	do.	do.	do.	do.	do.
0,1 %	Nach 4 Tagen: Gekeimt.	Nach 4 Tagen: Gekeimt.	Nach 4 Tagen: Gekeimt.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Stengel bis $^1/_4$ cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 2 cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 2 cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 2 cm lang.
0,05 %	Nach 4 Tagen: Gekeimt, nicht erheblich weiter voran (als 0,1 %).	do.	do.	do.	do.	do.	do.
0,025 %	Nach 4 Tagen: Gekeimt, nicht erheblich weiter voran (als 0,1 %).	do.	do.	do.	do.	do.	do.

Die basische Beschaffenheit ist hier zweifellos nicht in erster Linie maßgebend.

Es ist auch nicht erlaubt, den Unterschied auf das geringere Molekulargewicht des Ammonhydroxydes zu schieben.

Denn dieser ist nicht so groß ($NH_4.OH = 35$, $NaOH = 40$, $KOH = 56$), daß bei Ammoniak schon 0,01 % schädlich wirken könnte, während Natriumhydroxyd bei 0,1 % kaum verzögert und 0,1 % Kaliumhydroxyd die Keimung z. B. bei Gerste nur etwas verzögert, bei Kresse gar nicht.

Ammoniak von 0,1 % bewirkt bei allen von mir untersuchten Samen, daß die Keimung gänzlich unterbleibt (siehe auch Verfasser in Centralbl. f. Bakt. 32, 596).

Ammoncarbonat, das dem freien Ammonhydroxyd am nächsten stehende Ammoniaksalz von basischer Reaktion, ist auch noch ziemlich schädlich und übertrifft beinahe die Schädlichkeit der freien starken Alkalibase Kaliumhydroxyd. In 0,5 % Ammoncarbonat keimen die meisten Samen nicht mehr, während in 0,5 % KOH die Feuerbohne zu 50 % keimt, der Hanf zu 30 %.

Die Neutralsalze Ammonsalpeter und Ammonsulfat sind auch noch relativ stark schädlich. Denn 1 % Ammonsalpeter verzögert die Keimung bedeutend oder verhindert sie, 0,25 % hemmt auch noch. 1 % Ammonsulfat hindert die Keimung stark, 0,25 % schwächer.

Freilich hat 1 % salpetersaures Kalium auch eine schädliche Wirkung auf Keimlinge. Binnen 5 Tagen tritt die Keimung nicht ein, oder sie beginnt erst am 5. Tage.

Auch bei 1 % Natriumsalpeter bleibt die Keimung etwas zurück.

In 1 %iger Lösung scheint überhaupt nur Calciumsalpeter unschädlich zu sein.

Wie sich nun schwefelsaures Kalium gegen Keimlinge verhält, wurde von mir durch einige Versuche mit 2 %, 1 %, 0,5 % und 0,1 % Kaliumsulfat erprobt.

Es zeigte sich, daß Erbsen, Bohnen, Linsen, Gerstensamen, Kressen in der Keimung durch 0,1 % nicht, durch 0,5 % Kaliumsulfat kaum merklich gestört werden (binnen 6 Tagen). Auch bei 1 % macht sich keine entschieden schädliche Wirkung

geltend, höchstens manchmal eine geringere Wachstumsverzögerung (nach 6 Tagen).

Erst 2 % bringen eine deutlich ungünstige Wirkung hervor; das Wachstum erfolgt beträchtlich langsamer.

Chlorkalium weist eine relativ große Schädlichkeit auf:

	Bohnenkeimlinge (Feuer-)	Erbsenkeimlinge
Chlorkalium 5 %	Wirkt tödlich binnen 2 Tagen.	
Chlorkalium 2 %	Wirkt tödlich.	
Chlorkalium 1 %	Verlangsamt das Wachstum, Stengel und Wurzeln enorm dick, Verzweigung sehr dicht.	
Chlorkalium 0,5 und 0,25 %	Die abnormen Erscheinungen (von 1 %) sind entsprechend schwächer.	In 0,25 % Erbsenwurzel nach 5 Wochen abgestorben.
Chlorkalium 0,1, 0,05 und 0,025 %	Normales rasches Wachstum.	

Zum Vergleich stellte ich einige Versuche mit Chlorammonium auf:

	Erbse	Weiße Bohne	Linse	Kresse	Gerste
Chlorammon 0,5 %	Bleibt zurück gegen Kontrollversuch.	Bleibt zurück.	Bleibt zurück.	Bleibt zurück.	Bleibt zurück.
Chlorammon 0,1 %	Bleibt nicht zurück.	Wurzel bleibt zurück.	Nahezu gleich mit Kontrollversuch, nur Wurzel ein wenig kürzer.	Nahezu gleich mit Kontrollversuch.	Fast gleich, nur Wurzeln etwas kürzer.
Chlorammon 0,05 %		Gleich mit Kontrollversuch.	Gleich mit Kontrollversuch.	Gleich mit Kontrollversuch.	Gleich mit Kontrollversuch.
Kontrollversuch mit Aq. dest.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 3 1/2 cm lang, Knospe eben hervortretend.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 2 cm lang, Knospe hervortretend.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 cm lang, Stengel bis 1 cm lang.	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 5 1/2 cm, Stengel bis 2 cm lang.	Nach 4 Tagen: Wurzeln bis 6 1/2 cm, oberirdischer Teil bis 3 cm lang.

Das Chlorammonium ist somit dem Chlorkalium an schädlicher Wirkung ungefähr gleich.

Erst bei 0,1 °/₀ erfolgt in beiden Fällen ein normales Wachstum der Keimlinge.

Wie verhält sich nun Chlornatrium?

Für niedere pflanzliche Organismen sind die Neutralsalze der Alkalimetalle (mit einigen Ausnahmen) als ungiftig zu betrachten.

A. Richter fand (Flora 1892), daß Diatomeen eine 7 °/₀ige Kochsalzlösung 1 Jahr, eine 10 °/₀ige 1 Monat ertrugen.

Chara erträgt eine 0,5 °/₀ige Lösung 1 Jahr, eine 1 °/₀ige Lösung 4 bis 5 Monate.

Zygnema stellinum kann allmählich an eine 2 °/₀ige Lösung angepaßt werden, in einer 3 °/₀igen Lösung aber stirbt sie schließlich ab.

Spirogyra zeigte nach 4 Monaten nur wenige lebende Zellen in ca. 0,5 °/₀iger Lösung.

Cosmarium dagegen ertrug eine 8 °/₀ige Lösung 1 Monat lang.

Mäßige Mengen von Chlornatrium werden von Phanerogamen gut ertragen.

Doch treten bei steigender Menge von Alkalimetallchloriden im Boden Änderungen in der Qualität ein; die Cellulose wird vermehrt auf Kosten des Stärkemehles.

Lithiumsalze sind dagegen ziemlich giftig. Bei Hefe fand ich, daß 0,05 °/₀ noch schädlich auf dieselbe wirkt. Auch Keimlinge werden durch 0,2 °/₀ geschädigt, auch durch 0,05 °/₀ noch. 0,005 °/₀ aber fördert sie.

Rubidiumsalze beschleunigen die Hefevermehrung bei 0,05 °/₀. Größere Mengen sind schädlich. Keimlinge werden durch 0,2 °/₀ gefördert, durch größere Mengen geschädigt.

Caesiumsalze wirken bei 0,05 °/₀ fördernd auf die Hefe ein. Auf Keimlinge wirkt 0,05 °/₀ noch etwas schädlich ein, 0,01 °/₀ aber bewirkt eine deutliche Förderung.

Das Verhalten der Pflanzen gegen Chlornatrium ist besonders interessant, weil sich so viele Pflanzen (des Meeres und des Meerstrandes) offenbar an einen beträchtlichen Kochsalzgehalt ihres Substrates gewöhnt haben.

Wie verhalten sich nun die Landpflanzen aus der Phanerogamenabteilung gegen größere Kochsalzmengen? Wird die Kei-

mung derselben ungünstig beeinflußt und bei welcher Konzentration?

Ich nahm zu meinen Versuchen Kressen- und Kohlsamen. Der Gemüsekohl, den ich anwandte (es waren Blaukrautsamen), ist an der Küste des Mittelmeeres und der Nordsee zu Hause. Es interessierte mich besonders, das Verhalten der Keimlinge dieser Pflanze bei Gegenwart von Kochsalz zu ermitteln.

Leider waren die mir zur Verfügung stehenden Kohlsamen fast gar nicht keimungsfähig, so daß ich mit Kohl kein Resultat erhielt.

Chlornatrium.

Das Chlornatrium ist eine im Boden weit verbreitete Substanz, freilich tritt sie meist in kleinen Mengen auf.

Größere Mengen (Salzböden) sind selten.

Im Meerwasser ist bis 3 % Kochsalz aufgelöst. Trotzdem leben Pflanzen in demselben.

Eine nennenswerte Schädlichkeit wird also von dem Chlornatrium nicht zu erwarten sein.

Doch ist die Grenze, bei der die Schädlichkeit beginnt, nicht festgestellt.

Ich fand, wie aus folgender Tabelle hervorgeht, daß schon 2 % Kochsalz eine ziemlich starke Verlangsamung des Keimungsvorganges bewirkt, während 1 % eine wenig merkliche Hemmung hervorruft.

Bei 0,5 % ist gar keine nachteilige Einwirkung mehr zu bemerken.

	Kresse	Blaukohl
Kontrollversuch	Nach 48 Stunden: Wurzel bis 1 3/4 cm, Stengel bis 1/4 cm lang.	Nach 48 Stunden: Wurzel bis 1 cm lang, Knospe eben hervortretend. Die meisten keimten nicht (altes Samenmaterial).
Kochsalz 0,25 %	Nach 48 Stunden: Wie Kontrollversuch.	Nach 48 Stunden: Wie Kontrollversuch.
Kochsalz 0,5 %	Nach 48 Stunden: Wie Kontrollversuch.	Nach 48 Stunden: Wie Kontrollversuch.
Kochsalz 1 %	Nach 48 Stunden: Wenig zurückgeblieben gegen den Kontrollversuch.	Nach 48 Stunden:

	Kresse	Blaukohl
Kochsalz 2 %	Nach 48 Stunden: Stark zurückgeblieben gegen den Kontrollversuch, Wurzel eben sichtbar werdend. Nach weiteren 48 Stunden kein Fortschritt, ebenso nach 6 Tagen.	Nach 48 Stunden:
Kochsalz 5 %	Nach 48 Stunden: Nicht gekeimt, einige Samen aufgesprungen.	Nach 48 Stunden:

Am Kohl konnte ich leider, wie aus der Tabelle ersichtlich, die Einwirkung nicht verfolgen, da mein Samenmaterial zu schlecht war.

An der Kresse aber wurde festgestellt, daß schon 1 % die Keimung ein klein wenig verlangsamt, während 2 % bloß die ersten Keimungsstadien eintreten läßt, dann Stillstand verursacht. In 5 %iger Kochsalzlösung keimen die Samen überhaupt nicht aus. 0,5 % Kochsalz ist ohne Einfluß, ebenso 0,25 %.

Ich stellte dann noch ein paar Versuche mit Gerste an:

	Gerste
Kontrollversuch	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 5 cm lang, oberirdischer Teil bis 1 1/2 cm messend.
Kochsalz 1 %	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 2 cm lang, oberirdischer Teil noch nicht hervorgetreten. Keimung offenbar gehemmt.
Kochsalz 0,5 %	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 cm lang, oberirdischer Teil bis 2 cm messend. Keimlinge ungefähr auf gleicher Stufe mit den Kontrollkeimlingen.

Die Keimungshemmung durch 1 % Kochsalz ist also bei der Gerste noch erheblich deutlicher zu beobachten als bei der Kresse.

0,5 % Kochsalz ist bei Gerste ebenso wie bei Kresse ohne Einfluß auf den Keimungsvorgang.

Chlorcalcium (krystallisiert, wasserhaltig).

	Kresse	Kohl
Kontroll-versuch	Nach 2 Tagen: Wurzel bis 1 1/2 cm lang, Stengel bis 1/4 cm lang.	Nach 2 Tagen: Nicht gekeimt (schlechtes Samenmaterial?).
Chlorcalcium (kryst., $CaCl_2 + 10\,H_2O$) 0,25 %	Nach 2 Tagen: Wie Kontrollversuch.	Nach 2 Tagen: Samen nicht gekeimt.
Kryst. Chlorcalcium 0,5 %	Nach 2 Tagen: Samen wie beim Kontroll-versuch.	Nach 2 Tagen: Samen nicht gekeimt.
Kryst. Chlorcalcium 1 %	Nach 2 Tagen: Wenig zurück gegen den Kontrollversuch.	Nach 2 Tggen: Samen nicht gekeimt.
Kryst. Chlorcalcium 2 %	Nach 2 Tagen: Etwas zurück gegen den Kontrollversuch, Wurzel nur bis 3/4 cm lang.	Nach 2 Tagen: Samen nicht gekeimt.
Kryst. Chlorcalcium 5 %	Nach 2 Tagen: Samen nicht gekeimt.	Nach 2 Tagen: Samen nicht gekeimt.

Demnach ist das Chlorcalcium eine indifferente Substanz, die nicht einmal bei 2 % erheblich schadet.

Bei 5 % freilich unterbleibt die Keimung, was aber nur auf den Wasserentzug durch die starke Salzlösung zurückzuführen sein dürfte.

Mit Chlornatrium verglichen, ergibt sich scheinbar eine stärkere Schädlichkeit des Chlornatriums.

Das ist aber teilweise durch den Wassergehalt des Chlorcalciums, das ich anwandte, bedingt.

Denn das reine Chlorcalcium, das man zu solchen Versuchen anwenden muß, hat die Formel $CaCl_2 . 10\,H_2O$, während im Kochsalz kein Krystallwasser enthalten ist.

Das Krystallwasser des Chlorcalciums beträgt $\frac{180}{290}$ d. i. $\frac{1}{1,6}$, also mehr als die Hälfte des ganzen Gewichtes.

Wir müssen also die Hälfte des Gewichtes vom krystallisierten Chlorcalcium abziehen, um die wirksame Mineralsubstanz zu erhalten.

Tun wir das, dann modifiziert sich das oben erhaltene Resultat beträchtlich.

Statt 2 $^0/_0$iger Chlorcalciumlösung müssen wir dann 1 $^0/_0$ige Lösung sagen, und dann haben wir ungefähr dieselbe Wirkung auf Keimlinge, wie bei 1 $^0/_0$ Chlornatrium; d. h. es ist eine nur geringe Hemmung der Keimung nachweisbar.

In dem Chlorcalcium haben wir somit ein Neutralsalz gefunden, das nicht einmal bei 2 $^0/_0$ (wasserfrei 1 $^0/_0$) schadet.

Warum andere Neutralsalze der Alkali- und Alkalierdmetalle, selbst wenn sie bei geeigneter Verdünnung vortreffliche Nährsalze darstellen, schon bei 0,5 $^0/_0$ und weniger schädlich werden, ist bis jetzt unaufgeklärt.

Man wird wohl die Annahme machen müssen, daß diese Salze in der Zelle gespalten werden und daß dann ihre Spaltungsprodukte schaden.

Das Chlorcalcium würde dann zu den Salzen gehören, die durch das lebende Zellplasma nicht gespalten werden.

Übrigens muß bei diesen Neutralsalzen auch an eine verschiedengradige Änderung des Quellungszustandes gedacht werden.

Über den Einfluß verschiedener Substanzen auf die Keimung der Pflanzensamen. Wachstumsförderung durch einige.

II. Mitteilung.

Von

Th. Bokorny.

(Eingegangen am 23. Februar 1913.)

Organische Basen.

Ein 14 Tage alter Keimling von Phaseolus multiflorus wurde am 8. Mai in eine Auflösung von 0,1 % Anilinsulfat + 0,1 % mineralische Nährsubstanz (von der gewöhnlichen Zusammensetzung) eingesetzt und ans Licht gestellt; tagsüber befand sich der Versuch immer vor dem Fenster, bei Nacht im Zimmer. Am 20. Mai waren die Blattspreiten verdorrt; die Blattstiele waren schlaff, desgleichen der epikotyle Stengel von dem ersten Blattpaar an, während der hypokotyle Stengel noch steife Beschaffenheit zeigte, ebenso auch der epikotyle Stengel unter dem Blattansatz. Der hypokotyle Stengel war ziemlich stark angeschwollen, kurz, die ganze Pflanze war wenig gewachsen. Die Wurzeln schienen noch lebend zu sein, sie fühlten sich nicht schlaff an. Es hat somit die Wasseraufnahme und -fortleitung wohl noch stattgefunden. Die Blätter und die zarten, also stärker transpirierenden oberen Stengelteile waren somit offenbar an der Anhäufung des Anilinsulfates (infolge starker Wasserverdunstung) zugrunde gegangen. Auch in 0,1 % freiem Anilin ging ein Keimling binnen gleicher Zeit zugrunde.

Ein ganz ähnliches Bild bot ein weiterer Versuch, der

mit 0,1 % Anilinnitrat ganz ebenso angestellt worden war. Auch hier verdorrten die jungen Blätter und Stengel binnen 14 Tagen. Wurzel und Lösung waren braun, also war Gerbstoff ausgetreten.

Da 0,1 % Anilin zu schädlich erschien, ging ich nun zu Versuchen mit größeren Verdünnungen des Anilins über.

Versuch vom 5. Mai 1911. Ein 10 Tage alter Keimling von Phaseolus multiflorus (Feuerbohne) wurde in 0,02 %ige Anilinlösung verbracht, die auch noch mit 0,1 % der öfters genannten mineralischen Nährmischung versetzt war. Nach 18 Tagen war die Wurzel gut entwickelt, die oberirdischen Teile waren in der Entwicklung zurückgeblieben, kurz, die Blätter sattgrün und krausgefaltet, die jüngsten, kaum 1 cm langen Blätter etwas bleich. Nach weiteren 4 Tagen war die Entwicklung nicht weiter vorgeschritten, die jüngsten (bleichen) Blätter waren nun am Verdorren. Als die Pflanze nun noch weitere 8 Tage am Lichte gestanden hatte, ließ sich keinerlei Wachstum mehr daran feststellen. Es mußten also Störungen in den Funktionen der Organe eingetreten sein. Am 8. Juni zeigte sich dasselbe Bild: keinerlei Wachstum, Stamm und erstes Blattpaar noch dunkelgrün. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß im Blattfleisch und in den Schließzellen, ferner in Mark und Rinde des Stengels große Mengen von Stärke abgelagert waren.

Versuch vom 8. Mai 1911. Ganz ebenso wurde fast gleichzeitig mit dem vorigen auch ein Versuch aufgestellt, bei dem 0,02 % Anilinnitrat zur mineralischen Nährlösung zugesetzt war. Der Phaseolus-Keimling blieb ebenfalls in der Entwicklung stehen. Nach 22 Tagen waren die beiden untersten Laubblätter vergilbt, eines davon auch verwelkt, die Achselknospen derselben welk und verfärbt; das nächste Blattpaar war noch frisch und grün, aber krausgefaltet, die jüngsten Blätter waren welk.

Auch eine Wasserkultur mit 0,02 % Anilinsulfat ging binnen 4 Wochen zugrunde. Doch trat hier einiges Wachstum am Stengel und an den Blättern ein. Nach obengenannter Zeit waren nur Stengel und Blattstiele noch turgescent und schwach grün. Die mikroskopische Untersuchung ließ keine Stärke erkennen.

Diese paar Vorversuche zeigten schon an, wie giftig das Anilin für Blütenpflanzen ist.

Weitere Versuche bestätigten und erweiterten diese Erfahrung.

Wie aus den nachstehenden Keimungsversuchen hervorgeht, ist freies Anilin ein recht kräftig wirkendes Gift, so daß noch recht große Verdünnungen wenigstens eine Hemmung des Keimungsvorganges herbeiführen.

Nach O. Loew ist die Giftwirkung des Anilins — wie auch, und noch in höherem Grade, anderer Stoffe mit labilen Amidogruppen — auf das Eingreifen der letzteren in die Aldehydgruppen des aktiven Proteinstoffes zurückzuführen.

Nach den eben geschilderten Versuchen ist das Anilin noch bei 0,1 $^0/_0$ so giftig, daß kein Keimling bei Gegenwart des Anilins in dieser Verdünnung wachsen kann.

Auch 0,05 $^0/_0$ läßt die Keimung kaum eintreten.

0,025 $^0/_0$ hemmt ebenfalls noch sehr stark.

0,01 $^0/_0$ Anilin verlangsamt die Keimung der verschiedensten Samen ebenfalls.

Sogar bei 0,005 $^0/_0$ macht sich manchmal noch eine schwache Hemmung geltend.

Erst 0,0025 $^0/_0$ Anilin hemmt gar nicht mehr. Ja es scheint sogar, daß es bei Gerste und Kresse fördernd wirkt.

0,001 $^0/_0$ Anilin ist entweder gleichgültig (Gerste) oder fördert etwas.

Das Anilin ist somit als ein starkes Gift für Keimlinge anzusehen und kommt dem Ammoniak an Schädlichkeit mindestens gleich.

Tetraäthylammoniumhydroxyd ist bei 0,05 $^0/_0$ nicht mehr schädlich für Weizen, Gerste, Wicke, Hanf, Kresse, besitzt also weit geringere Giftigkeit für Keimlinge als Ammoniak und Anilin.

Bei Äthylamin ist schon 0,1 $^0/_0$ nur mehr wenig schädlich, 0,05 $^0/_0$ fördert das Wachstum der Keimlinge. Dasselbe ist also noch weniger schädlich als Tetraäthylammoniumhydroxyd.

Phenylhydrazin hemmt bei 0,05 $^0/_0$, ist kaum merklich schädlich bei 0,01 $^0/_0$, fördert bei 0,005 $^0/_0$.

Organische Basen und verschiedene keimende Samen.

	Weizen	Gerste	Wicke	Hanf	Kresse	Feuerbohne	Weiße Bohne
Kontroll-versuch	Nach 7 Tagen: Obere Teile bis 11 cm.	Nach 7 Tagen: Oberird. Teile bis 11 cm, Wurzel ebenso lang.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis $2^1/_2$ cm, Stengel bis $1^1/_2$ cm.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel bis 2 cm.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel bis 5 cm.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 5 cm, oberird. Teile bis 3 cm.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel bis 4 cm.
Anilin 0,1 %	Nach 7 Tagen: Nicht gewachsen.	Nach 7 Tagen: Nicht entwickelt.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 1 mm lang, Stengel nicht da.	Nach 7 Tagen: Keimung nicht über ersten Anfang hinausgekommen.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 7 mm, Stengel unentwickelt.	Nach 7 Tagen: Gar kein Wachstum.	Nach 7 Tagen: Kein Wachstum.
Anilin 0,05 %	Nach 7 Tagen: Keimling nirgends hervorgetreten.	Nach 7 Tagen: Keime nicht entwickelt.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Stengel nicht hervorgetreten.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 2 mm lang.		Nach 7 Tagen: Wurzelwachstum eben schwach beginnend.	Wie Feuerbohne.
Anilin 0,025 %	Nach 7 Tagen: Keime höchstens 1 cm hoch.	Nach 7 Tagen: Keime nicht entwickelt.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 2 cm, Stengel eben hervortretend.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis $1^1/_2$ cm, Stengel kaum da.		Nach 7 Tagen: Wurzel zurück gegen Kontrollversuch.	Wie Feuerbohne.
Anilin 0,01 %	Nach 7 Tagen: Keime bis 3 cm. Keimung zurück.	Nach 7 Tagen: Keime noch nicht entwickelt.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel eben hervortretend.	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 2 cm. Etwas zurück.		Nach 7 Tagen: Wurzel zurück gegen Kontrollversuch.	Wie Feuerbohne.
Anilin 0,005 %	Nach 7 Tagen: Keime bis 6 cm hoch. **Nur wenig zurück.**	Nach 7 Tagen: Keime bis 5 cm lang. **Nur wenig zurück.**	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 7 cm lang, Stengel bis 1 cm. **Nicht zurück.**	Nach 7 Tagen: Wurzel bis 3 cm, Stengel bis $1^1/_2$ cm. **Kaum zurück.**		Nach 7 Tagen: Wurzel zurück gegen Kontrollversuch.	Wie Feuerbohne. Keimung **etw. zurückgeblieben.**

Anilin 0,0025 %		Nach 4 Tagen: Keimlinge voran gegen Kontrollversuch. Nach 6 Tagen: Bedeutend voran.			Nach 4 Tagen: Keimlinge voran gegen Kontrollversuch. Nach 6 Tagen: Bedeutend voran.		
Anilin 0,001 %		Nach 4 Tagen: Ungefähr gleich mit Kontrollversuch. Nach 6 Tagen: Ungefähr gleich.			Nach 4 Tagen: Keimlinge ungefähr gleich mit Kontrollversuch. Nach 6 Tagen: Etwas voran.		
Tetraäthylammonhydroxyd 0,05 %	Keimung hält gleichen Schritt mit Kontroll-Vers.	Nach 3 Tagen: Keimung etwas weiter voran als bei Gerste.	Keimung ein wenig zurückbleibend gegen Kontrollversuch.	Keimung gleichen Schritt haltend mit Kontrollversuch.	Nach 3 Tagen: Etwas voran gegen Kontrollversuch.		
Tetraäthylammonhydroxyd 0,025 %	Verunglückt.						
Tetraäthylammonhydroxyd 0,01 %	Verunglückt.						
Tetraäthylammonhydroxyd 0,005 %	Verunglückt.						
Äthylamin 0,1 %	Keimung verzögert.	Keimung gleichen Schritt haltend mit Kontrollversuch (oben bei Anilin).	Keimung bleibt zurück.	Keimung bleibt etwas zurück.	Keimung verzögert.		

	Weizen	Gerste	Wicke	Hanf	Kresse	Feuerbohne	Weiße Bohne
Äthylamin 0,05 %	Keimung voran gegen Kontrollversuch.	Keimung voran gegen Kontrollversuch.	Keimung voran gegen Kontrollversuch.	Keimung ein klein wenig zurückbleibend.	Keimung voran gegen Kontrollversuch.		
Diäthylamin 0,1 %	Keimung hält fast gleichen Schritt m. Kontrollversuch.	Keimung voran gegen Kontrollversuch.	Keimung etwas zurück gegen Kontrollversuch.	Keimung etwas voran gegen Kontrollversuch.	Keimung hält gleichen Schritt mit Kontrollversuch.		
Phenylhydrazin 0,05 %		Nach 2 Tagen: Wurzel bis $^1/_2$ cm, Keimstengel unentwickelt. Nach 6 Tagen: Zurückgeblieben, aber gesund.			Nach 2 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Keimstengel bis $^1/_4$ cm. Nach 6 Tagen: Zurückgeblieben, aber gesund.		
Phenylhydrazin 0,01 %		Nach 2 Tagen: Wurzel bis $1^1/_2$ cm. Nach 6 Tagen: Wurzel bis 4 cm, oberird. Teil bis 5 cm lang. Also voran gegen Kontrollversuch.			Nach 2 Tagen: Wurzel bis 2 cm, Stengel bis $^1/_2$ cm. Nach 6 Tagen: Ungefähr gleich mit Kontrollversuch.		
Phenylhydrazin 0,005 %		Nach 2 Tagen und nach 6 Tagen: Kein Samen gekeimt (Unfähigkeit zu keimen, schlechte Körner).			Nach 2 Tagen: Wurzel bis $1^1/_2$ cm, Keimstengel bis 1 cm. Nach 6 Tagen: Wurzel bis 8 cm, Stengel bis 5 cm. Also voran gegen Kontrollversuch.		
Kontrollversuch (zu den Phenylhydrazinversuchen)		Nach 2 Tagen: Wurzel bis $^1/_2$ cm, Keimstengel unentwickelt. Nach 6 Tagen: Wurzel bis 3 cm, oberird. Teil bis 2 cm lang.			Nach 2 Tagen: Wurzel bis $2^1/_2$ cm, Stengel bis $^1/_2$ cm. Nach 6 Tagen: Wurzel bis 7 cm, Stengel bis 3 cm lang.		

Fluornatrium und Flußsäure.

	Kresse
Kontroll-versuch	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 10 cm, Stengel bis 4 cm lang.
Fluornatrium 0,1 %	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Stengel bis 2 cm lang. Schädlicher Einfluß sehr deutlich.
Fluornatrium 0,025 %	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 7 cm, Stengel bis 2½ cm lang. Keimlinge also noch etwas zurück gegen Kontroll-versuch.
Fluornatrium 0,01 %	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 8 cm, Stengel bis 4 cm lang. Also nahezu gleich mit Kontrollversuch. Förderung nicht ersichtlich.

Das Fluornatrium ist hiernach als ein ziemlich heftiges Gift für Kressenkeimlinge, und vermutlich auch für andere Keimlinge, zu erachten. 0,1 % ist sehr schädlich, 0,02 % noch merkbar hemmend.

Die direkt eintauchenden Teile, die Wurzeln, sind naturgemäß zuerst von der Giftwirkung betroffen; man kann das namentlich an dem Versuch mit 0,1 % erkennen, wo die Wurzelbildung binnen 6 Tagen um das 10fache hinter dem Kontrollversuch zurückblieb.

Fluornatrium ist ein vollständig neutral reagierendes Salz, die Wirkung auf Keimlinge muß also wo anders gesucht werden.

In der obenerwähnten Einwirkung von Fluornatrium auf Calciumverbindungen haben wir den Schlüssel zur Erklärung der sonst nicht begreiflichen Giftwirkung des Fluornatriums.

Ähnlich verhält es sich wohl auch mit der Flußsäure hinsichtlich des Grundes der Giftigkeit. Sie ist gegen Keimlinge nicht nur ebenso giftig wie Fluornatrium, sondern noch beträchtlich schädlicher. Bei 0,1 % (siehe untenstehende Versuche) ist keine Keimung möglich (bei den verschiedensten Samen); 0,01 % sogar hemmt noch merklich. 0,001 % fördert die Keimung. Daß bei 0,01 % noch die Säurewirkung etwas ausmacht, ist nicht wohl anzunehmen.

	Kresse	Gerste	Erbsen	Linsen	Bohnen
Fluor-wasserstoff 0,1 %	Nach 6 Tagen: Keimung unterblieben, nur dann und wann die Schale geöffnet und der Kern schwach hervortretend.	Nach 6 Tagen: Keimung unterblieben.	Nach 6 Tagen: Keimung unterblieben.	Nach 6 Tagen: Keimung unterblieben; Schimmel auf den Samen, wie auch etwas bei Bohnen und Erbsen.	Nach 6 Tagen: Keimung unterblieben.
Fluor-wasserstoff 0,01 %	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel bis $2^1/_2$ cm; Keimling noch schwach zurück.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel (mit Blatt) bis $1^1/_2$ cm lang. Keimlinge nicht zurück.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis $^1/_2$ cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 1 cm lang, Stengel bis $^1/_4$ cm; Keimlinge zurück.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 1 cm. Keimung etwas zurückbleibend.
Fluor-wasserstoff 0,001 %	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 8 cm, Stengel bis 4 cm lang. Keimlinge mindestens gleich mit Kontrollversuch.	Nach 6 Tagen: Wurzeln bis $6^1/_2$ cm, Stengel (mit Blatt) bis $2^1/_2$ cm lang. Keimlinge voran.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 4 cm lang. Keimlinge voran.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 5 cm lang, Stengel bis $1^1/_2$ cm. Keimlinge voran.	Nach 6 Tagen: Keimlinge ungefähr gleich mit Kontrollversuch.
Kontroll-versuch.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 8 cm, Stengel bis $3^1/_2$ cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel bis $1^1/_4$ cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis $^1/_2$ cm.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 3 cm, Stengel bis $1^1/_2$ cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 2 cm.

Hinsichtlich der Säurewirkung der Flußsäure, die ja eine starke Säure ist, auf Keimlinge vergleiche man auch die Schwefelsäurewirkung [siehe den betr. Passus dieses Aufsatzes[1]].

Da die Flußsäure noch bei 0,01 % merklich auf die Keimung wirkt (ihr Molekulargewicht beträgt freilich nur 20 gegen 49 bei Schwefelsäure), ist sie als etwas schädlicher wie Schwefelsäure zu betrachten (bei Keimlingen).

Die Giftwirkung der Flußsäure ist jedenfalls nur zum Teil auf ihre Säurebeschaffenheit zurückzuführen, im übrigen unerklärt.

Noch mehr ist dies letztere der Fall bei der Giftwirkung des Fluornatriums, das, wie oben angegeben, noch bei 0,02 % merklich hemmend auf das Keimlingswachstum wirkt.

Diese Giftwirkung ist höchst merkwürdig und bis jetzt nicht erklärt.

---

[1]) Nach Effront soll freie Flußsäure 10 bis 20 mal stärker auf Spalt-Hefepilze wirken als Salzsäure.

Sie wurde zuerst an Tieren gefunden (Tappeiner).

Dann konstatierte O. Loew[1]) an verschiedenen Algen (Oscillaria, Cladophora, Oedogonium, Diatomeen), ferner an Blättern von Wasserpflanzen (Trapa, Elodea, Vallisneria), daß 0,2 % Fluornatrium für sie tödlich ist (binnen 24 Stunden).

In einer Kontrollösung mit 0,2 % Chlornatrium blieben alle die genannten Organismen am Leben.

Zuerst wird der Zellkern verändert, wie O. Loew an Spirogyren sah.

Er verquillt teils, an anderen Zellen wird er kontrahiert.

Dann stellen sich Verquellungserscheinungen an den Chlorophyllbändern ein.

Bei Milchsäurebacillen fand Effront, daß schon 0,001 % Fluornatrium der Gärtätigkeit entgegenwirkt.

Die Fäulnis wird nach Tappeiner, ferner auch nach O. Loew schon durch 0,01 % gehemmt.

Sproßhefe ist weniger empfindlich gegen Fluoride.

0,0055 % Fluorkalium soll förderlich auf die Gärung einwirken. Erst größere Mengen wirken hemmend. Diese Wirkung wird aber bei Anwesenheit von Kalksalzen abgeschwächt, offenbar weil sich das schwerer lösliche Fluorcalcium bildet.

„Die giftige Wirkung des Fluornatriums kann nicht etwa in einer Kalkentziehung gesucht werden, sonst müßten neutrale Oxalate ebenfalls giftig auf Spaltpilze wirken, was nicht der Fall ist" [2]).

Meine Untersuchungen an Keimlingen bestätigen die große Giftigkeit des Natriumfluorids und die noch größere der Flußsäure.

Es ist schließlich doch keine andere Annahme möglich, als daß die Fluoride und die Flußsäure Calcium aus irgendwelchen Organen des Zellkörpers entziehen.

Denn das ist gerade chemisch das eigentümlichste an den Fluorverbindungen, daß sie aus Lösungen und sonstigen Mischungen das Calcium als unlösliches (häufig krystallisiertes) Fluorcalcium ausscheiden.

Das Calcium ist ja wohl ein integrierender Bestandteil mancher Zellorgane und steckt vermutlich als Calcium-Eiweißverbindung in denselben.

Ich beobachtete z. B., daß Spirogyren bei sorgfältigstem Calciumentzug (Aufzucht in calciumfreiem Wasser und in Platin- oder Aluminiumgefäßen) eine ganz auffällige Schrumpfung ihrer Chlorophyllbänder erleiden. Die letzteren zeigen ausgesprochene

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1892.

[2]) O. Loew, a. a. O., S. 64.

Hungererscheinungen, anastomosieren schließlich miteinander, als ob eines von dem anderen Calcium beziehen sollte. Durch Calciumzufuhr kann man diesen Hungerzustand wieder beseitigen.

Daß in den Zellkernen auch Calciumverbindungen vorhanden sind, hat O. Loew mit oxalsaurem Kalk bewiesen, der sofort Strukturstörungen hervorruft. Besonders freie Oxalsäure bewirkt diese noch bei großer Verdünnung an den Spirogyra-Zellkernen (0,001 %).

Oxalsäure.

Für Algen ist die Oxalsäure noch etwas giftig, selbst wenn man sie mit Kali neutralisiert.

Freie Oxalsäure aber soll so giftig sein, daß noch 0,0001 % wirksam erscheint.

Es ist das eine recht auffällige Tatsache, für die zuerst O. Loew einen Schlüssel zur Erklärung gefunden hat.

Zunächst aber sei angeführt, wie sich Keimlinge gegen Oxalate und Oxalsäure verhalten.

	Kresse
Kontrollversuch	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 3 1/2 cm, Stengel bis 1 cm lang.
Oxalsaures Kali 0,1 %	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1/2 cm, Stengel bis 1 cm lang. Wachstum offenbar beträchtlich gehemmt, namentlich die Wurzel erscheint geschädigt.
Oxalsaures Kali 0,01 %	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel bis 1 cm lang. Durch 0,01 % Kaliumoxalat wird also die Keimung nicht gehemmt.

Aus den eben angegebenen Versuchen geht hervor, daß Kaliumoxalat bei 0,1 % hemmend auf den Keimungsvorgang einwirkt, während 0,01 % ohne Einwirkung bleibt. Es ist also eine mäßige Giftigkeit zu konstatieren.

Vergleichen wir damit die Wirkung des Oxalates auf andere Pflanzenobjekte und auf Mikroorganismen.

Infusorien, Flagellaten und Diatomeen findet man nach 15stündigem Aufenthalt in einer 0,5 %igen Lösung von neutralem oxalsauren Kali oder Natron tot, dagegen in weinsaurem Kali oder Natron noch lebend.

Wird 0,2 % ige Oxalatlösung angewendet, so leben nach 24 Stunden noch einige Vorticellen und Euglenen, andere sind abgestorben.

Bei Anwendung von 0,1 % Oxalat scheint die Giftwirkung fast verschwunden zu sein, die Vorticellen, Paramaecien, Euglenen und Diatomeen sind nach 3 Tagen noch in lebhafter Bewegung.

Fadenalgen, wie Zygnema, Mougeotia, Vaucheria, Sphaeroplea, Cladophora, Oedogonium, starben binnen 24 Stunden unter Verquellung der Chlorophyllkörper in einer 0,5 % igen Lösung von oxalsaurem Kali ab.

Dagegen werden durch 0,1 % ige Oxalatlösung manche Spirogyren erst binnen 8 bis 10 Tagen getötet.

Die Giftigkeit des Kaliumoxalates ist demnach keine sehr große, sondern eine mittlere.

Immerhin muß man sich auch darüber noch wundern.

Denn weinsaure Salze sind bei dieser Verdünnung (0,1 %) nicht mehr schädlich.

Ich ließ Spirogyren 2 Tage lang in einer 0,1 % igen Calciumbitartratlösung, die mit Dikaliphosphat genau neutralisiert war, am Lichte liegen.

Es zeigte sich, daß die Spirogyren Stärke ansetzten.

Es konnte sogar (durch Kohlensäureausschluß) bewiesen werden, daß sie die Weinsäure selbst assimilierten.

Auch stärkere Lösungen von neutralweinsaurem Salz, essigsaurem Natron, citronensaurem Salz usw. sind unschädlich.

Naegeli konnte bei 1 % sogar noch Schimmel- und Hefewachstum erzielen. Die Säuren (als Salze angewandt) werden sogar von den betreffenden Pilzen assimiliert.

Es muß somit ein besonderer Grund für die Giftigkeit der oxalsauren Salze vorhanden sein.

Aus dem Studium der Giftwirkung von Oxalaten auf Pflanzenzellen hat O. Loew eine Erklärung abgeleitet für die sonst rätselhaft erscheinende Giftwirkung der neutralen oxalsauren Alkalisalze (Flora 1892).

Er fand bei 2 % Kaliumoxalat eine rasche Verquellung der Chlorophyllbänder von Spirogyra.

Ferner wird auch der Zellkern rasch angegriffen.

Beide, der Zellkern wie die Chlorophyllbänder, enthalten wahrscheinlich eine Calciumverbindung des Nucleins.

Wird das Calcium daraus als unlösliches Oxalat abgeschieden, so wird der Quellungszustand verändert, was eine Strukturstörung und chemische Umlagerung zur Folge hat.

Wie verhalten sich Keimlinge gegen freie Oxalsäure?

	Kresse
Kontrollversuch	Nach 40 Stunden: Wurzel bis 1 cm lang, Stengel bis $^1/_2$ cm messend.
Oxalsäure 0,1 %	Nach 40 Stunden: Wurzel bis $^1/_2$ cm lang, Stengel noch kaum bemerkbar. Die Keimlinge sind also entschieden zurück gegen den Kontrollversuch. Nach 60 Stunden waren sie nicht merklich weiter gewachsen.
Oxalsäure 0,01 %	Nach 40 Stunden: Wurzel bis 1 $^1/_2$ cm lang, Stengel bis $^1/_2$ cm messend. Nach 60 Stunden: Keimlinge mit denen des Kontrollversuches gleich.
Oxalsäure 0,001 %	Nach 40 Stunden: Wurzel bis 1 $^1/_2$ cm lang, Stengel bis $^1/_2$ cm messend. Nach 60 Stunden: Keimlinge mit denen des Kontrollversuches gleich.

Demnach ist freie Oxalsäure nicht merklich schädlicher für den Keimungsvorgang als das neutrale Kaliumoxalat.

Auch bei der freien Säure ist 0,1 % noch recht schädlich, ohne die Keime gleich von vornherein abzutöten. Die Keimung tritt ein, erleidet aber bald einen Stillstand.

0,01 % freie Oxalsäure ist ohne Einfluß auf die Keimung. Ebenso 0,001 %.

O. Loew hat bei Algen eine viel größere Empfindlichkeit der Zellen gegen freie Oxalsäure vorgefunden, was wohl zum Teil auf die Empfindlichkeit der Algen gegen freie Säure zurückzuführen ist.

Es addiert sich hier die Säurewirkung zu der kalkentziehenden.

Der genannte Autor fand, daß in einer Lösung von nur 0,0001 % freier Oxalsäure in destilliertem Wasser nach 5 Tagen der Zellkern kontrahiert sei bei noch normaler Beschaffenheit des Cytoplasmas.

In einer Lösung der äquivalenten Menge Weinsäure waren aber selbst nach 9 Tagen die meisten Zellen nicht im geringsten geschädigt.

Für niedere Pilze sind oxalsaure Salze nicht giftig! Auch freie Oxalsäure nur gemäß ihrem Säurecharakter!

Bakterien (des faulenden Fleischwassers) wachsen in Nährlösungen noch bei Gegenwart von 0,5 $^0/_0$ neutralen Kaliumoxalates.

Peptonlösungen faulen bei Gegenwart von 0,5 $^0/_0$ oxalsaurem Kali ebenso rasch wie ohne diesen Zusatz.

Sproßhefe bringt nach 24 stündigem Verweilen in einer 2 $^0/_0$igen Oxalatlösung noch normale Gärung hervor (so stark wie im Kontrollversuch).

In 1 $^0/_0$ Oxalsäure (mit Fleischextrakt) entwickelt sich nach Infektion mit Penicilliumsporen bald Schimmel.

Freie Oxalsäure schadet Sproß- und Spaltpilzen nicht mehr als freie Weinsäure. Diese niederen Pilze sollen nach O. Loew Ca-freie Zellkerne haben.

Oxydationsgifte.

Ihre Wirkung auf Keimlinge und andere lebende Gewebe erklärt sich aus der direkten Oxydation, die das Plasmaeiweiß durch dieselben erleidet (O. Loew).

Diese Oxydationswirkung ist zu unterscheiden von den durch molekularen Sauerstoff hervorgerufenen Oxydationsvorgängen, wie die Atmung einer ist.

Bei letzterer wird nicht das Plasmaeiweiß oxydiert, sondern die eingebetteten Thermogene.

Die Oxydationsgifte aber oxydieren das Plasmaeiweiß selbst. Eine noch so kleine Veränderung dieser Art kann den Tod des Gesamtplasmas herbeiführen[1]).

Dazu gehören das Ozon, das Wasserstoffsuperoxyd, die chlorsauren Salze, der Chlorkalk, die freien Halogene, die übermangansauren Salze usw.

Ozon und Wasserstoffsuperoxyd liefern bei ihrer Spaltung atomistischen Sauerstoff im Plasma.

Übermangansaure Salze wirken intensiv giftig durch direkte Abtretung von Sauerstoffatomen an die Plasmaproteine, ebenso unterchlorigsaure Salze.

Chlor, Brom und Jod spalten aus dem Wasser Sauerstoff ab und übertragen ihn auf die organische Substanz des Plasmas.

---

[1]) O. Loew, Giftwirkungen, S. 13.

Chlorsaure Alkalien oder chlorsaure Salze im allgemeinen wirken weniger stark oxydierend als übermangansaures Kali; es gehört bei ersterem ein besonderer Anstoß dazu, der bei Reaktionen im Reagensglas z. B. durch Platinmohr gegeben wird, bei dem Plasma aber wohl in den energischen Schwingungen der Plasmaatome liegt (O. Loew).

Dabei muß freilich vorausgesetzt werden, daß z. B. Schimmelpilze, die noch 7 % Kaliumchloratzusatz zum Nährmedium ertragen, keine genügend starken Schwingungen des Plasmas auf das chlorsaure Kali übertragen.

Aerobe Spaltpilze sollen noch bis zu 3 % chlorsaures Kali ertragen (Kitasato und Weyl).

Bei Keimlingen liegen nur wenige Beobachtungen vor.

O. Loew bemerkt, daß Buchweizenkeimlinge in Nährlösungen mit 0,01 % kaliumchlorathaltiger Nährlösung binnen 3 Wochen absterben unter Erbleichen der Blätter.

Meine Versuche über chlorsaures Kali und Keimlinge (siehe die untenstehende Tabelle) haben eine ziemlich starke Giftigkeit des chlorsauren Kaliums für Gersten- und Kressenkeimlinge ergeben.

Ich setzte die Keimlinge nicht in Nährlösung, sondern beobachtete die Einwirkung des Chlorates, das in destilliertem Wasser gelöst war, auf die in dieser Lösung keimenden Samen.

Eine Zufuhr von Nährstoff zu den Keimlingen ist in diesem Stadium nicht nötig, da dieselben vorläufig von den in ihnen aufgespeicherten Nährstoffen leben.

Damit ist jede Umsetzung des chlorsauren Kaliums mit anderen (sonst in der Nährlösung enthaltenen) Stoffen ausgeschlossen.

Auch ist damit ein rascheres Resultat ermöglicht, da die wenigen Vegetationspunkte des Samens sehr bald von dem Gifte mit Beschlag belegt werden.

Faktisch gibt sich in dem viel langsameren Wachstum der Wurzel und des Stammes schon bei 0,1 % $KClO_3$ eine intensive Beeinflussung des Teilungsvorganges an den Vegetationspunkten zu erkennen.

Vielleicht tritt schon bei 0,1 % gar keine Teilung mehr ein und das geringe tatsächliche Wachstum der Wurzel und

der oberirdischen Teile beruht nur auf einer Streckung der schon vorhandenen Zellen beim Eindringen von Wasser (und Nährstoffen aus den Kotyledonen).

0,5 % läßt einen solchen Vorgang auch noch teilweise zu. Bei 1 % entwickelt sich die Wurzel meist gar nicht mehr.

	Gerste	Kresse
Kontrollversuch	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 10 cm, oberird. Teil bis 9 cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 7 cm, Stengel bis 4 cm lang.
$KClO_3$ 0,1 %	Nach 6 Tagen: Wurzel bis $1^1/_2$ cm, oberird. Teil bis 1 cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Stengel bis 1 cm lang.
$KClO_3$ 0,5 %	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 1 cm, oberird. Teil $^1/_4$ cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel abgestorben, kaum $^1/_2$ cm lang; Stengel bis 1 cm.
$KClO_3$ 1 %	Nach 6 Tagen: Nur selten ausgekeimt, Wurzel bis $^1/_2$ cm lang, kein oberirdischer Teil.	Nach 6 Tagen: Wurzel nicht entwickelt, Stengel bis $^1/_2$ cm lang.

Ich rechnete nicht mit einer so starken Giftigkeit des Kaliumchlorates, mußte also nachträglich noch ein paar weitere Versuche anstellen.

	Kresse
Kontrollversuch	Nach 3 Tagen: Wurzel bis $1^1/_2$ cm, Stengel bis 1 cm lang.
$KClO_3$ 0,025 %	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Stengel bis $^1/_2$ cm lang.
$KClO_3$ 0,01 %	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Stengel bis $^1/_2$ cm lang. Nach 6 Tagen: Wurzeln bedeutend kürzer als beim Kontrollversuch.

Selbst 0,01 % bewirkt also noch, daß das Wachstum der Kressenkeimlinge dem der Kontrollkeimlinge nicht ganz gleichkommt.

Das übertrifft die Beobachtungen bei Algen und die hierbei festgestellte Giftigkeit des Kaliumchlorates gegen Algen.

Ich fand, daß 0,1 % Kaliumchlorat Algen und Pilze binnen 24 Stunden schädigt.

Doch fanden sich nach dieser Zeit noch lebende Cladophoren, Beggiatoen usw. vor.

Bewegliche Infusorien wurden ebenfalls aufgefunden.

Sogar nach weiteren 36 Stunden waren noch lebhaft bewegliche Infusorien und einige lebende Algenfäden da.

O. Loew[1]) gibt an, daß Spirogyren in 0,01 %iger Kaliumchloratlösung erst nach einer Reihe von Tagen absterben.

Die Giftigkeit des Kaliumchlorates gegen Keimlinge ist also verhältnismäßig und überhaupt groß.

Übermangansaures Kali (Kaliumpermanganat).

	Kresse
Kontrollversuch	Nach 40 Stunden: Wurzel bis 1 cm lang, Stengel bis 1/2 cm messend.
MnO_4K 0,01 %	Nach 40 Stunden: Keimlinge nur um ein Weniges zurück hinter dem Kontrollversuch. Fließpapier bräunlich gefärbt. Nach 60 Stunden ebenso.
MnO_4K 0,001 %	Nach 40 Stunden: Keimlinge mit dem Kontrollversuch gleich. Fließpapier nicht gefärbt. Nach 60 Stunden: Keimlinge mit denen des Kontrollversuches mindestens gleich (Förderung?)

Ich erwartete eine sehr schädliche Wirkung von dem Kaliumpermanganat.

Darum benutzte ich für die Versuche 0,01 und 0,001 %ige Lösungen.

Erstere erwies sich gerade noch als ein wenig hemmend für die Kressenkeimung, letztere nicht.

Für Algen sind nach meinen Untersuchungen noch recht große Verdünnungen giftig.

In 0,002 %iger Lösung blieben die Algen zwar 6 Stunden lang grün, aber die Zellen starben zum Teil ab, indem die Chlorophyllkörner in Unordnung gerieten und der Plasmaschlauch sich kontrahierte.

Infusorien und Diatomeen allerdings blieben in dieser Lösung 6 Stunden lang am Leben.

[1]) O. Loew, Giftwirkungen, S. 17.

Nach 24 Stunden waren in einer Lösung von 1:100000 (0,001 $^0/_0$) sämtliche Mikroorganismen am Leben. Bei der Verdünnung 1:100000 scheint hier die Giftwirkung aufzuhören.

In einer Lösung von 1:20000 starben binnen 6 Stunden alle Algen und Infusorien unter Braunfärbung des Plasmas ab.

Die Algenfäden waren schlaff und hatten eine schmutzig rotbraune Farbe angenommen.

Das Kaliumpermanganat wirkt nach O. Loew[1]) „aktiv oxydierend" auf das Zellplasma ein und tötet dasselbe hierdurch.

Die Oxydationskraft dieses Stoffes ist ja überhaupt sehr groß, er wirkt schon bei gewöhnlicher Temperatur auf verschiedene organische Stoffe.

Für Fäulnisbakterien ist Kaliumpermanganat ebenfalls ein hochgradiges Gift.

Zwar konnte ich hier Versuche derselben Art wie sonst nicht anstellen; sie sind nicht direkt vergleichbar.

Denn das zugesetzte Gift (MnO_4K) wird zum Teil von den (außer den Bakterien) vorhandenen organischen Substanzen (wie Pepton) in Beschlag genommen.

Trotzdem konnte ich feststellen, daß in einer fäulnisfähigen Lösung, die mit 0,002 $^0/_0$ Kaliumpermanganat versetzt war, binnen 3 Tagen keine Fäulnis eintrat, während in einer ganz gleichen zweiten Flüssigkeit ohne Permanganat stinkende Fäulnis sich zeigte.

Ja sogar durch 0,001 $^0/_0$ MnO_4K wird die Fäulnis etwas hintangehalten.

Da ein Teil des Kaliumpermanganates durch die organischen Stoffe der Nährlösung verbraucht wird, so bringt offenbar eine noch geringere Konzentration als 0,002 und 0,001 $^0/_0$ den Stillstand bzw. die Verlangsamung des Wachstums hervor.

An Hefe stellte ich 0,01 $^0/_0$ als die eben noch tödliche Konzentration fest. Etwas davon geht auch hier noch ab, indem Oxydation der gelösten Substanzen stattfindet.

Da oben bei den Kresseversuchen mit 0,01 $^0/_0$ die Angabe „Papier bräunlich gefärbt" steht, ist auch hier die angegebene Verdünnung etwas größer anzunehmen.

---

[1]) O. Loew, Giftwirkungen, S. 16.

Jod.

	Kresse
Kontroll-versuch	Nach 60 Stunden: Wurzel bis 2 1/2 cm, Stengel bis 3/4 cm lang.
Jod 0,001 %	Nach 60 Stunden: Wurzel bis 2 1/2 cm lang, Stengel bis 3/4 cm messend. Es war kein Unterschied gegenüber dem Kontrollversuch zu bemerken.
Jod 0,01 %	Nach 60 Stunden: Die Keimlinge waren ein wenig zurück gegen den Kontrollversuch, machten aber sonst einen gesunden Eindruck.

0,01 % Jod ist also für die Kressenkeimung nur noch ein wenig hinderlich. 0,001 % gar nicht mehr.

Die angegebenen Jodlösungen wurden von mir hergestellt, indem 1 g J mit 2 g JK in wenig Wasser gelöst, dann auf 1000 und von hier aus auf 0,01 % bzw. 0,001 % verdünnt wurde.

So erhielt ich eigentlich Jod-Jodkalium-Lösungen.

Da aber meine früheren Lösungen ebenso hergestellt wurden, sind die Resultate vergleichbar.

Die relativ geringere Giftigkeit des Jods gegen Keimlinge setzte mich darum etwas in Erstaunen.

Denn ich[1]) hatte früher eine größere Schädlichkeit — bei anderen Organismen — gefunden.

Auf Algen und Infusorien wirkt Jod noch bei der Verdünnung von 0,01 % tödlich.

In den Algenfäden kontrahierte sich der Plasmaschlauch, und die Stärkekörner nahmen eine blaue Farbe an.

Durch 0,005 % Jod wurden binnen 24 Stunden sämtliche eingesetzten Algen und niederen Tiere getötet; desgleichen durch 0,002 %.

In 0,001 %iger Jodlösung fanden sich nach dieser Zeit noch lebende Algen vor; von Cladophora waren die dünneren Zweige abgestorben, die dicken Äste noch am Leben.

Brom und Chlor wurden von mir an Keimlingen nicht ausprobiert.

Dieselben sind gegen Algen und Mikroorganismen sehr giftig.

Algen und Infusorien wurden durch 0,01 %ige Chlor-

[1]) Giftw. versch. Chem., S. 274.

lösungen binnen 1 Stunde getötet unter Bleichung und Contraction des Inhaltes.

Als ich die Verdünnung noch weiter steigerte, zeigte sich, daß durch Lösung von 0,005 $^0/_0$ binnen 24 Stunden alles Leben erlosch, desgleichen durch 0,002 $^0/_0$.

Sogar durch 0,001 $^0/_0$ Chlor wurde der Tod herbeigeführt, nur wenige Zellen waren in letzterem Falle ausgenommen. Die toten Algenfäden waren gebleicht.

Bromlösungen sind ebenfalls recht schädlich, aber weniger wie Chlor.

0,01 $^0/_0$ Br tötet Algen und Infusorien binnen wenigen Stunden.

0,005 $^0/_0$ tötet binnen 24 Stunden nicht alle Algen und Infusorien.

Man findet nach dieser Zeit noch einige lebende Infusorien, Diatomeen, Würmer, Algenzellen darin vor.

Eine Bromlösung von 0,002 $^0/_0$ läßt die gesamten Algen und Mikroorganismen unverändert; ebenso natürlich auch 0,001 $^0/_0$ Brom.

Die Halogene Chlor und Brom sind also starke Gifte, Chlor aber noch bedeutend stärker als Brom. Jod ist gegen Mikroorganismen noch giftiger als Brom, nicht so giftig wie Chlor.

Es ist wohl nicht daran zu zweifeln, daß Chlor und Brom auch für Keimlinge recht schädlich sind, der ja zwischen Blütenpflanzen und Algen kein sehr großer Unterschied hinsichtlich der Angreifbarkeit durch Gifte zu bestehen pflegt, und schon das Jod bei 0,01 $^0/_0$ die Keimung hemmt.

Schwefelsäure.

Säuren wirken auf das Plasma schädlich, indem sie sich an die Amidogruppen der Plasmaproteine anlagern (O. Loew).

Nun ist die Schwefelsäure eine der stärksten Säuren, wir werden von ihr eine starke Einwirkung erwarten dürfen.

	Kresse
Kontroll-versuch	Nach 4 Tagen: Wurzel bis $4^1/_2$ cm lang, Stengel bis $1^1/_2$ cm messend.
Schwefelsäure 0,1 $^0/_0$	Nach 4 Tagen: Auskeimung der Samen unterblieben. Die Samen waren also durch 0,1 $^0/_0$ Schwefelsäure abgetötet worden.

	Kresse
Schwefelsäure 0,05 %	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 2 mm lang, Stengel nicht entfaltet. Samen also sehr weit zurück, wahrscheinlich schon getötet.
Schwefelsäure 0,01 %	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel bis 1½ cm lang. Keimlige auf gleicher Stufe mit den Kontrollkeimlingen stehend.

Da 0,05 % noch stark hemmend, ja sogar tödlich auf Keimlinge wirkt, dürfen wir wohl annehmen, daß auch 0,025 % noch das Wachstum hemmen würden.

Erst 0,01 % ist ohne Einwirkung.

Hefe ist etwas weniger empfindlich gegen Schwefelsäure.

Ich versetzte je 50 ccm Gär- und Nährlösung mit 0,05 % und mit 0,1 % Schwefelsäure, fügte dann eine Spur Hefe zu.

Ein Kontrollversuch (ohne Schwefelsäurezusatz) wurde ebenfalls aufgestellt.

Nach 24 stündigem Aufenthalt der Flüssigkeiten im Brutofen (bei 25 bis 30°) zeigte sich beim Kontrollversuch und bei dem Versuch mit 0,05 % Schwefelsäurezusatz eine Hefevermehrung; es bildete sich ein merklicher Hefeabsatz. Unter dem Mikroskop waren viele Sproßverbände in beiden Flüssigkeiten auffindbar.

In dem Versuch mit 0,1 % Schwefelsäure war dies nicht der Fall; auch war hier kein Hefeabsatz bemerkbar.

Somit ist die Hefe bei Gegenwart von 0,1 % Schwefelsäure nicht mehr vermehrungsfähig; bei 0,05 % ist sie es noch.

Versuche mit 0,5 % und mit 1 % Schwefelsäure ergaben natürlich auch ein Ausbleiben der Vermehrung.

Um zu entscheiden, ob die Hefe wirklich abgetötet, nicht bloß gelähmt war, stellte ich die Versuche noch einmal in der Weise an, daß ich die Hefe zuerst in 0,1 % bzw. 0,5 % Schwefelsäure brachte und dort 24 Stunden beließ.

Nachher erst wurde sie in Gär- und Nährlösung gesetzt.

Es ergab sich, daß die Hefe faktisch abgetötet war; sie vermehrte sich nicht mehr, trotzdem in der Gär- und Nährlösung keine Schwefelsäure vorhanden war.

Daraus ergibt sich, daß in allen Fällen soviel Gift, d. h. eine so große mit 0,1 % usw. Schwefelsäure versetzte Lösungs-

menge, verwendet wurde, als zur Abtötung der Hefe nötig war, ja sogar meistens ein Überschuß.

Phosphorsäure.

Diese Säure ist als starke Mineralsäure natürlich auch von schädlichem Einfluß auf Pflanzen.

Doch erwartete ich von derselben eine geringere Schädlichkeit, als z. B. von Schwefelsäure und Salzsäure.

Denn ein früherer Versuch mit Hefe hatte mich darüber belehrt[1]). Es wurde die Hefevermehrung in Nährlösungen bei Gegenwart von Phosphorsäure ausprobiert.

Zunächst wurde 0,1 % Phosphorsäure zugesetzt.

1 g Hefe, die ursprünglich zugegeben worden war, hatte sich nach 48 Stunden um 60 % vermehrt, wie die Trockensubstanzbestimmung ergab.

Im Kontrollversuch war eine Vermehrung um 100 % eingetreten.

Es zeigt sich also ein deutlich hemmender Einfluß der 0,1 %igen Phosphorsäure.

Derselbe Versuch wurde dann mit 0,25 % Phosphorsäure gemacht. Nach 48 Stunden war die Flüssigkeit klar; Geschmack kaum mehr süß, Gärung nicht mehr im Gange. Unter dem Mikroskop zeigte sich bakterienfreie, sprossende Hefe.

Die Trockensubstanz betrug 0,39 g, während die ursprünglich zugesetzte Hefe (1 g Preßhefe) 0,30 g Trockensubstanz hatte.

Es war also eine kaum 30 % betragende Steigerung der Trockensubstanzmenge eingetreten.

0,25 % Phosphorsäure hemmt die Vermehrung der Hefe noch stärker als 0,1 %.

Bei einem dritten Versuch wurde die Phosphorsäuremenge auf 0,5 % gesteigert.

Nach 28stündigem Stehen bei 20 bis 28° war die Flüssigkeit noch nicht geklärt, der Geschmack noch deutlich süß, die Gärung noch im Gange.

Unter dem Mikroskop erwies sich die Hefe als anscheinend gut aussehend, aber selten sprossend, fast lauter einzelne Zellen bildend und bakterienfrei.

---

[1]) Chem.-Zeitg. 1906.

Schon daraus, daß die Sprossung ausgeblieben war, ließ sich schließen, daß keine erhebliche Assimilation stattgefunden habe, da ja die Hefe überschüssige Nahrung durch Bildung neuer Zellen zu verwerten pflegt.

Die Trockensubstanzbestimmung ergab nur 0,15 g.

Das war um 50 % weniger als die Trockensubstanz der anfänglich zugesetzten lebenden Hefe betrug.

Man kann daraus schließen, daß die Hefe durch die Einwirkung der 0,5 %igen freien Phosphorsäure abgestorben war, wodurch Trockensubstanz in die Flüssigkeit austrat.

Bei einem weiteren mit 1 % Phosphorsäure angestellten Versuche ergab sich natürlich auch keine Vermehrung, sondern eine Verminderung der Trockensubstanz.

Aus den Versuchen geht hervor, daß die Phosphorsäure für Hefe weit weniger giftig ist als Salzsäure.

Von der Schwefelsäure gilt etwas Ähnliches wie von der Salzsäure. Sie ist für Hefe auch giftiger als Phosphorsäure, doch nicht mehr in demselben Maße.

Die Schwefelsäure tötet Hefe noch bei 0,1 %, nicht aber bei 0,001 %.

Schimmelpilze vertragen sogar noch 1 % Phosphorsäure, während die meisten Bakterienarten sowie Algen und Infusorien gegen Säure sehr empfindlich sind.

So ist der Cholerabacillus schon gegen 0,1 %ige Säure empfindlich.

Dagegen können Milzbrandbacillen 48 Stunden lang eine 1 %ige Salzsäure (!), und deren Sporen ebensolange eine 2 %ige Salzsäure ertragen (Dyrmont).

Die Phosphorsäure ist bekanntlich als Verbindung (Lecithin, Nuclein usw.) ein normaler Bestandteil von Pflanzenzellen.

Es interessierte mich deshalb besonders, die Einwirkung freier Phosphorsäure auf die Keimlinge kennen zu lernen. Denn, obwohl als Salz zugeführt, muß sie doch erst einmal in den freien Zustand übergeführt werden, um jene Verbindungen eingehen zu können.

Kresse-Samen wurden in der gewöhnlichen Weise auf Fließpapier keimen gelassen, das mit Phosphorsäurelösung getränkt und bedeckt war.

	Kresse
Kontrollversuch	Nach 46 Stunden: Wurzel bis 2 cm lang, Stengel bis 1/2 cm messend.
Phosphorsäure 1 %	Nach 46 Stunden: Keimung noch in den allerersten Stadien befindlich. Wurzel kaum hervorgetreten. Lösung schädlich. Auch beim weiteren Stehen ging die Keimung nicht vorwärts.
Phosphorsäure 0,1 %	Nach 46 Stunden: Wurzel 1/4 bis 3/4 cm lang, meist unter 1/2 cm bleibend, Stengel nicht entwickelt. 0,1 % Phosphorsäure hemmt also die Keimung der Kresse merklich. Auch beim weiteren Stehen ging die Keimung nicht vorwärts.
Phosphorsäure 0,01 %	Nach 46 Stunden: Wurzel bis 2 cm lang, Stengel bis 1/2 cm messend. Die Keimlinge ließen gegenüber dem Kontrollversuch keinen Unterschied erkennen.

Die Phosphorsäure wirkt bei 1 % offenbar allmählich tödlich, bei 0,1 % hemmend, aber bei weitem nicht so stark wie die Schwefelsäure.

Letztere tötet ja bei 0,1 % die Keime und verhindert damit das Auskeimen vollständig; sogar 0,05 % töten noch.

Phosphorsäure vermag sogar bei 1 % die Keimung nicht völlig zu unterdrücken. Es tritt wenigstens das allererste Keimungsstadium ein.

Zwischen Schwefelsäure und Phosphorsäure besteht demnach ein beträchtlicher Unterschied in der Wirkung auf den Keimungsvorgang.

Erstere ist viel schädlicher.

Ist das auf den verschiedenen Aciditätsgrad zurückzuführen?

Beide haben dasselbe Molekulargewicht: 98. In dem Molekulargewicht ist also kein Unterschied begründet.

Um die Acidität zu prüfen, stellte ich mir Phosphorsäure- und Schwefelsäurelösungen in hoher Verdünnung her und ließ sie auf empfindliche Lackmuslösungen wirken. Die Grenze der Einwirkungsfähigkeit auf Lackmus wurde so erprobt:

0,1 %ige Lösungen beider Säuren röteten Lackmus stark, 0,01 % ebenfalls, 0,005 % schwächer, 0,002 % eben noch merklich, 0,0015 % nicht mehr.

Bei 0,0015 % liegt also die Grenze.

Einen Unterschied zwischen Schwefelsäure und Phosphorsäure konnte ich nicht erkennen.

Borsäure.

Diese Mineralsäure ist wegen ihrer antiseptischen Wirkung, d. h. ihrer bakterienfeindlichen Beschaffenheit, schon längst bekannt.

Ihre Lösungen werden in der Medizin zur Bekämpfung von Bakterien der Mund- und Rachenhöhle, ferner zu Borsalben für Wunden gebraucht.

Eine Bakterienentwicklung wird durch 1 : 133 verhindert[1]).

Nach R. Koch behindert sogar schon 0,1 % das Wachstum der Milzbrandbacillen in der Fleischpeptonlösung.

Auf Fleisch- und Fruchtsäfte wirkt sie bei 1 % konservierend.

	Kresse
Kontrollversuch	Nach 46 Stunden: Wurzel bis 2 cm lang, Stengel bis 1/2 cm messend.
Borsäure 0,1 %	Nach 46 Stunden: Wurzel bis 1 1/4 cm lang, Stengel erst im Beginn des Wachstums, Länge noch kaum bestimmbar. Keimlinge zurückgeblieben gegen den Kontrollversuch.
Borsäure 0,01 %	Nach 46 Stunden: Wurzel bis 2 cm lang, Stengel bis 1/2 cm messend. Keimlinge mit denen des Kontrollversuches gleich.
Borsäure 1 %	Nach 46 Stunden: Die Keimung der Samen war nicht über die ersten Anfangsstadien hinausgekommen. Beim weiteren Stehen zeigte sich kein Fortschritt.

1 % Borsäure ist also tödlich für Keimlinge.

0,1 % hemmt den Keimungsvorgang beträchtlich.

0,01 % hat keinen Einfluß.

Die Borsäure ist demnach weit schädlicher als sie nach ihrer Säurebeschaffenheit sein müßte. Sie ist ungefähr der Phosphorsäure an Schädlichkeit für Keimlinge zu vergleichen.

Ihre Acidität ist nicht groß.

Ich stellte mir 1 %ige, 0,1 %ige und 0,01 %ige Lösungen davon her und fand, daß 1 % noch kräftig auf Lackmusfarbstoff reagiert, 0,1 % ziemlich schwach, 0,01 % gar nicht mehr.

Die Borsäurelösung wurde in eine bereitgehaltene, selbst hergestellte, sehr empfindliche Lackmuslösung gegossen, um den Farbenumschlag in Rot zu beobachten.

---

[1]) Nothnagel, Arzneimitt., S. 348.

Natürlich mußte bei 0,1 % eine größere Menge Borsäurelösung auf die gleiche Quantität Lackmuslösung genommen werden wie bei 1 %; bei 0,01 % eine noch weit größere wie bei 0,1 %.

Zum Vergleich sei angeführt, daß die Schwefelsäure noch bei 0,002 % eine Rötung des Lackmusfarbstoffes bewirkt, ebenso die Phosphorsäure und die Salzsäure.

Bei Borsäure liegt die Grenze der Einwirkung zwischen 0,1 und 0,01 %!

Die Acidität ist also sicher nicht schuld an der relativ starken Giftigkeit der Borsäure.

Woran dieselbe sonst liegt, ist bis jetzt völlig unerklärt.

Schweflige Säure.

An die Giftwirkung der schwefligen Säure knüpft sich ein besonderes praktisches Interesse, weil sie im Rauch der Steinkohlenfeuerung enthalten ist.

	Kresse
Kontrollversuch	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 1/2 cm, Stengel bis 1 1/2 cm lang.
SO_2 0,1 %	Nach 4 Tagen: Keimung im ersten Stadium stecken geblieben, Wurzel 2 bis 3 mm lang.
SO_2 0,01 %	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 5 1/2 cm, Stengel bis 2 cm lang.

Demnach ist die schweflige Säure für Keimlinge ungefähr ebenso giftig wie Schwefelsäure.

Die angegebenen Lösungen wurden hergestellt, indem das aus Kupfer- und Schwefelsäure beim Erhitzen entwickelte Schwefeldioxyd in Wasser bis zur Sättigung bei 15° eingeleitet wurde.

1 l Wasser, d. i. 1000 g Wasser, lösen dabei 44 l SO_2, d. i. $44 \cdot 2{,}88 = 126{,}72$ g SO_2 auf. Wir haben damit eine 12,67 %ige Lösung hergestellt.

Diese wird dann mit Wasser bis zu den genannten Konzentrationen verdünnt.

Da das SO_2 mit Wasser in H_2SO_3 übergeht und dieses die eigentliche schweflige Säure ist, so muß die genannte Prozentzahl 12,67 im Verhältnis $\frac{H_2SO_3}{SO_2} = \frac{82}{64}$ erhöht werden.

Es ergibt sich dann ungefähr 16 % H_2SO_3.

Danach erhöhen sich die in der Tabelle genannten Prozentzahlen um nahezu ein Viertel.

Trotzdem vermag die in der Tabelle mit 0,1 % aufgeführte Schwefligsäurelösung die Keimung nicht ganz zu unterdrücken.

Die Keimwurzel erreicht immer noch die Länge von 2 bis 3 mm.

Ich war von diesem Resultat einigermaßen überrascht.

Denn sonst wird die schweflige Säure als wesentlich giftiger geschildert wie die Schwefelsäure.

0,01 % SO_2 soll Schimmel- und Sproßpilze binnen 24 Stunden töten (Linossier), während Schwefelsäure bei letzterer Verdünnung nicht schadet.

Nach meinen eigenen Untersuchungen sterben Spirogyren, Zygnemen und Infusorien binnen 2 Stunden in 0,1 %iger SO_2 völlig ab.

Darin unterscheiden sie sich schon von obigen Keimlingen, deren Wurzel darin immer noch 2 bis 3 mm lang wird, wozu eine Zeit von mindestens 12 Stunden gehört. So lange bleiben sie also noch am Leben.

Selbst 0,01 % SO_2 tötet die Algen binnen einigen Tagen, wenn auch einzelne resistentere Individuen länger am Leben bleiben können.

Läßt man sie in 0,01 % SO_2 zugedeckt noch einige Zeit stehen, so tritt keine Fäulnis ein.

Also verhindert 0,01 % SO_2 die Fäulnis.

Etwas weniger giftig ist die selenige Säure.

Von dieser verhindert 0,01 % die Fäulnis nicht.

Salpetrige Säure.

Die salpetrige Säure und ihre Salze gelten als sehr giftig.

Letztere freilich nur insoweit, als in den Zellen daraus HNO_2 abgespalten wird.

	Kresse
Kontrollversuch	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 1/2 cm, Stengel bis 1 1/2 cm lang.
KNO_2 0,1 %	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 2 cm, Stengel bis 1 1/2 cm lang.
KNO_2 0,01 %	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel bis 2 cm lang.

Demnach hemmt 0,1 % KNO_2 die Entwicklung der Kressenkeimlinge etwas, 0,01 % nicht mehr.

Mit der Giftigkeit des Kaliumnitrites bei Keimlingen ist es also nicht weit her.

Dieses Resultat steht in einigem Widerspruch mit dem von Molisch erhaltenen, wonach Nitrite für Phanerogamenwurzeln sehr giftig sein sollen.

Ich kann mir den Widerspruch nur so erklären, daß ich annehme, die Keimlingswurzel bilde in ihrem ersten Stadium, so lange die Nährstoffe aus den Keimling selbst in Hülle und Fülle fließen, keine freie Säure.

Dadurch, daß keine salpetrige Säure freigemacht wird, unterbleibt auch die heftige Giftwirkung der letzteren; sie ist durch zahlreiche Experimente sichergestellt.

Freie salpetrige Säure wirkt noch bei 0,001 % giftig auf Algen, sie ist viel giftiger als Salpetersäure.

Wahrscheinlich wirkt sie dadurch, daß sie noch bei großer Verdünnung in Amidogruppen eingreift (O. Loew).

Spirogyren haben einen neutralen Zellsaft; infolgedessen sind Nitrite nicht sehr giftig für sie.

Gegen freie salpetrige Säure sind auch tierische Organismen sehr empfindlich, ferner niedere Pilze.

Leider konnte ich die Wirkung der freien salpetrigen Säure auf Keimlinge nicht weiter verfolgen.

Ich zweifle nicht daran, daß dieselbe auf Keimlinge ebenfalls sehr giftig wirkt.

Sie gehört zu den allgemeinen Giften (O. Loew).

Betrachten wir die Wirkung der salpetrigen Säure auf viele Pilze und andere niedere Organismen, so ist ersichtlich, daß sie ein starkes Gift ist.

Auch medizinisch gilt die salpetrige Säure als heftiges Gift, wie auch andere Oxyde des Stickstoffes.

Gegen freie salpetrige Säure sind niedere Pilze sehr empfindlich, obwohl sie eine schwache Säure ist. Sie ist dadurch besonders ausgezeichnet, daß sie noch bei großer Verdünnung in Amidogruppen eingreift (O. Loew); dabei können, je nachdem ein Amidokörper aus der Fettreihe oder ein Amidobenzolderivat vorliegt, zweierlei Resultate erhalten werden, in ersterem Falle entsteht eine Hydroxydsäure, in diesem ein Diazokörper:

1. $(X) - NH_2 + NOOH = (X) - OH + N_2 + H_2O$.
2. $(X) - NH_2 + NOOH = (X) - N = N - OH + H_2O$.

Freie salpetrige Säure wirkt bei bedeutend größerer Verdünnung (1:100000) giftig auf Algen ein als Salpetersäure (Loew und Bokorny).

Pikrinsäure (Trinitrophenol).

Die Pikrinsäure ist von medizinischer Seite schon seit längerer Zeit als giftig erkannt worden.

Dieselbe bewirkt Gelbfärbung der Haut und aller Organe; ferner Übelkeit, Erbrechen, Durchfall, Abmagerung und starke Veränderung der roten Blutkörperchen.

Auch auf niedere Tiere wirkt sie stark giftig.

Als desinfizierendes Verbandmittel wurde sie wegen ihrer bakterienfeindlichen Wirkung empfohlen.

	Kresse
Kontrollversuch	Nach 46 Stunden: Wurzel bis 2 cm lang, Stengel bis $^1/_2$ cm messend.
Pikrinsäure 0,1 %	Nach 46 Stunden: Wurzel bis $1\,^1/_2$ cm lang, Stengel bis $^1/_2$ cm messend. Durch 0,1 % wird also die Keimung nur ein wenig gehemmt.
Pikrinsäure 0,01 %	Nach 46 Stunden: Wurzel bis 2 cm lang, Stengel bis $^1/_2$ cm messend. Die Keimlinge dieses Versuches unterschieden sich von denen des Kontrollversuches nicht.

Demnach ist die Pikrinsüure für Kressen-Keimlinge nur wenig schädlich.

Bei 0,1 % kann man die Giftigkeit derselben gerade noch schwach erkennen.

Es stimmt das überein mit dem, was ich früher über andere Nitrokörper beobachtet habe[1]).

Nitroäthan erwies sich in 0,2, 0,1 und 0,05 %iger Lösung als unschädlich für Mikroorganismen.

Spirogyren zeigten sich nach 2 Tagen noch ganz normal.

Infusorien schwammen lebhaft hin und her.

Amöben streckten ihre Pseudopodien aus.

Conferven wuchsen ungestört weiter.

[1]) Chem.-Zeitg. **20**, 1896.

Alles machte den Eindruck ungehinderter Lebenstätigkeit.

Für höhere Tiere scheint das Nitroäthan ein etwas stärkeres Gift zu sein; denn nach Gibbs und Reichert bedingen Nitromethan und Nitroäthan in Dosen von $^1/_2$ bis 1 g pro 1 kg Tier den Tod durch Atmungslähmung.

Auch mit **Nitroglycerin** (Sprengöl) stellte ich einige Versuche an.

Zunächst stellte ich mir von gut ausgewaschenem Sprengöl eine Lösung in absolutem Alkohol her und mischte diese mit destilliertem Wasser einmal in dem Verhältnis, daß eine Lösung im Verhältnis von 1:500 entstand, das andere Mal so, daß eine solche von 1:1000 entstand.

Beim Eingießen der alkoholischen Lösung in Wasser erfolgte zunächst eine Ausscheidung, die aber beim Umschütteln sogleich vollständig verschwand.

Es wurden dann 5 Lösungen bereitet, von denen jede etwas mineralische Nährsalze (bis 0,1 $^0/_0$ insgesamt) enthielt, im übrigen:

a) 0,2 $^0/_0$ Sprengöl, b) 0,1 $^0/_0$, c) 0,05 $^0/_0$, d) 0,01 $^0/_0$, e) Kontrollversuch ohne Sprengöl.

Zur Kontrolle wurden auch Nährlösungen mit 0,1 bis 0,01 $^0/_0$ Alkohol (ohne Sprengöl) bereitet, um die Wirkung des Alkohols beurteilen zu können. Derselbe war, wie ich bald sah, ohne Einfluß.

In die Lösungen wurden Spirogyren, Diatomeen, Infusorien, Spaltpilze, Rotatorien usw. gebracht.

Die Versuche wurden in offenen Bechergläsern am zerstreuten Tageslicht stehen gelassen.

Nach 6 Stunden waren bei Versuch a), also in der am stärksten nitroglycerinhaltigen Lösung, noch viele Spirogyrazellen am Leben.

Viele waren auch schon geschädigt oder abgestorben.

Oft zeigte sich eine Ansammlung der Spiralbänder in der Mitte der Zelle (um den Zellkern herum).

Die Diatomeen, Infusorien und Amöben führten keine Bewegungen mehr aus, schienen aber zum Teil noch am Leben zu sein.

Sogar nach 3 Tagen zeigten sich in der 0,2 $^0/_0$ igen Lösung noch viele Fäden turgescent, wenn auch sonst gestört.

Der Zellkern hatte nicht mehr die richtige zentrale Lage, die Chlorophyllbänder waren verschoben usw.

In der 0,01 %igen und sogar in der 0,1 %igen Nitroglycerinlösung fanden sich nach 3 tägiger Versuchsdauer nicht nur lebende Spirogyren, sondern auch lebhaft bewegliche Infusorien vor.

Nun wurden die sämtlichen Lösungen mit 1 bis 10 % Rohrzucker und etwas schwefelsaurem Ammonium, ferner einer Spur Bierhefe versetzt.

Nach 3 Tagen zeigte sich in Lösung a) bis e) eine starke Pilzvegetation.

Die Hefe hatte sich stark vermehrt und war zum Teil zu langen Pilzfäden ausgewachsen.

Nicht einmal 0,2 % Nitroglycerin hatte die Pilzvegetation unterdrücken können. Auch Gärung trat ein.

Nitroglycerin ist also für niedere Pflanzen und Tiere eine nur in geringem Maße giftige Substanz.

Ja es muß sogar angenommen werden, daß einige der genannten Organismen das Nitroglycerin zu ihrer Ernährung verbrauchen.

Denn nach Beendigung des Versuches war in keiner der Lösungen mehr Nitroglycerin vorhanden.

Während der aufgehobene Rest der reinen Nitroglycerinlösung beim Kochen einen scharfen widerlichen Geruch nach Nitroglycerin von sich gab, war mit den das Nitroglycerin enthaltenden Nährflüssigkeiten nach Beendigung des Versuches keine Spur eines solchen Verhaltens nachzuweisen.

Das Nitroglycerin in 0,2 bis 0,01 %igen Lösungen wird also durch Pilze, vielleicht auch durch Algen verbraucht; es ist in geeigneter Verdünnung ein Nährstoff.

Für höhere Tiere und Menschen ist das Nitroglycerin bekanntlich ein ziemlich starkes Gift.

Die giftige Wirkung auf Tiere beruht nach Cagnoli auf der Bildung von salpetriger Säure, die bekanntlich ein starkes Gift ist.

Da diese ein starkes Gift auch für Pflanzen und Mikroorganismen ist, muß angenommen werden, daß eine Abspaltung von salpetriger Säure im Körper der Pflanzen und Mikroorganismen nicht stattfindet.

Das Nitroglycerin muß für solche Versuche, da es im Handel nicht erhältlich ist, von dem Experimentator selbst (in kleiner Menge) hergestellt werden.

Eine bewährte Vorschrift hierzu ist folgende, in jedem Laboratorium leicht auszuführende Darstellung:

10 g Salpetersäure von 1,5 spez. Gew. werden mit 20 g Schwefelsäure von 1,84 spez. Gew. gemischt.

Die Mischung (die sich stark erwärmt hat) ist gut zu kühlen, bis sie nicht mehr als 10° aufweist.

Dann tröpfelt man 1 bis 2 g wasserfreies Glycerin hinein, schwenkt etwas um und schüttet die ganze Mischung in 1 l Wasser von Zimmertemperatur. Das Sprengöl setzt sich ab.

Nachher gießt man das Wasser ab, wäscht das Öl wiederholt mit Wasser von Zimmertemperatur und verwendet es schließlich zur Herstellung der obengenannten Lösungen.

Schwefelkohlenstoff.

Der Schwefelkohlenstoff gilt als giftig für Pflanzen wie auch für Tiere. Seine Verwendung zum Vergiften von Insekten ist bekannt.

Man hat ihn sogar schon als Konservierungsmittel gegen Pilze gebraucht. In neuester Zeit wendet man ihn in der Land-, Forst- und Gartenwirtschaft zur Bekämpfung von schädlichen Mikroorganismen des Bodens, um die sogenannte „Bodenmüdigkeit" zu beseitigen. Faktisch werden manche Bakterien und sonstige Mikroorganismen von ihm getötet oder in der Entwicklung gehemmt.

Eine Algen- und Infusorienmischung, die ich gerade in einem Glase vorrätig hatte, wurde lebend in ein Wasser eingesetzt, das mit einem Überschuß von Schwefelkohlenstoff umgeschüttelt worden war; am Boden des Gefäßes hatte sich der Überschuß angesammelt.

Nach 3 Tagen zeigte die mikroskopische Untersuchung, daß sowohl Zygnemen als Spirogyren und Conferven, lauter Fadenalgen, abgestorben waren. Auch war keinerlei tierisches Leben oder Bakterienleben zu bemerken.

Vorversuche mit Erbsenkeimlingen, Linsen- und Sojakeimlingen zeigten mir, daß der Schwefelkohlenstoff auch für Keimpflanzen, namentlich deren Wurzeln, schädlich sei.

Abies Douglasii. Die Samen dieser Konifere wurden eingequellt, dann auskeimen gelassen. Kaum die Hälfte der Samen gelangte zur Wurzelentwicklung.

Bei einigen aber trieb die Hauptwurzel kräftig hervor, diese wurden zu Versuchen verwendet.

Ein Paar solcher Keimlinge wurden auf feuchtem Fließpapier in einer flachen Glasschale ausgelegt; einige Tropfen Schwefelkohlenstoff wurden neben die Keimlinge auf das Fließpapier gebracht; die Schale wurde dann gut bedeckt.

Nach 5 Tagen zeigte sich nichts Abnormes in der Entwicklung der Keimlinge.

Ein daneben stehender sonst ganz gleicher Kontrollversuch — ohne Schwefelkohlenstoffzusatz — diente zum Vergleich.

Als nun zu einer Schale nochmals Schwefelkohlenstoff gesetzt wurde, kam binnen wenigen Tagen eine beträchtliche Differenz zustande.

Dieselbe stieg, als nach 3 Tagen nochmals Schwefelkohlenstoff zugesetzt wurde.

Nun waren die Keimlinge in dem Schwefelkohlenstoffgefäß sehr erheblich im Wachstum zurückgeblieben.

Der Stengel war zwar bei allen diesen Keimlingen noch turgescent und schön grün, die Wurzel aber befand sich nur bei dem dritten Teil der Keimlinge noch am Leben; die Keimblätter hatten sich fast gar nicht aus der Samenschale hervorgehoben, während dies bei den Kontrollpflanzen stark der Fall war.

Letztere hatten sich tadellos entwickelt und zeigten auch viel kräftigere geotropische Krümmungen.

Pinus silvestris. Hier keimte der größte Teil der Samen aus.

Die Keimlinge mit eben hervorbrechender Hauptwurzel wurden zum Teil ohne Schwefelkohlenstoffzusatz in der vorhin beschriebenen Weise wachsen gelassen.

Nach 5 Tagen zeigte sich, daß die Keimlinge ohne Schwefelkohlenstoffzusatz wesentlich voran waren. Ihre Hauptwurzel war sehr stark gewachsen, durchschnittlich mindestens noch einmal so lang wie bei den Schwefelkohlenstoffkeimlingen.

Bei nochmaligem Schwefelkohlenstoffzusatz wuchs (binnen 3 Tagen) die Differenz beträchtlich.

Nach drittmaligem Zusatz und wieder 2 tägiger Einwirkung war der schädliche Einfluß des Schwefelkohlenstoffes außerordentlich deutlich.

Die Kontrollkeimlinge waren insgesamt auf 6 bis 8 cm Länge herangewachsen. Die Kotyledonen hatten sich stark aus der Samenschale hervorgedrängt, der Stengel hatte dabei eine scharfe geotropische Krümmung gemacht. Auch die Wurzel war stark gewachsen und hatte sich nötigenfalls gekrümmt.

Von den Schwefelkohlenstoffpflanzen waren einige gänzlich (an Wurzel, Stengel, Keimblättern) abgestorben und verfärbt; bei einigen war nur die Wurzel zugrunde gegangen; nirgends war ein beträchtliches Wachstum und deutliche geotropische Krümmung eingetreten.

Pinus montana. Der größere Teil der vorhandenen Samen keimte aus; einige erst nach ziemlich langer Zeit (10 bis 12 Tagen). Nun wurden die Keimlinge in 2 Portionen geteilt.

Die Schale mit Schwefelkohlenstoffzusatz zeigte nach 5 Tagen (vom Schwefelkohlenstoffzusatz an gerechnet) noch keine merklichen Unterschiede gegenüber dem Kontrollversuch.

Nun wurde von neuem Schwefelkohlenstoff zu einer Schale hinzugesetzt.

Nach 3 Tagen zeigte sich noch keine schädliche Wirkung.

Bei nochmaligem Schwefelkohlenstoffzusatz und abermaligem 2 tägigen Warten nahmen die Keimlinge nur ein solches Aussehen an, daß sie als völlig verloren betrachtet werden konnten.

Sämtliche 17 Keimlinge der Schwefelkohlenstoffschale zeigten eine braune, schlaffe Hauptwurzel und völlig abgestorbene Wurzelspitzen.

Die Erschlaffung begann sogar schon auf die grünen Teile des Keimlings, das hypokotyle Stengelglied und die Keimblätter überzugehen.

Geotropische und heliotropische Krümmungen waren an diesen Keimlingen nicht erheblich zur Ausführung gekommen.

Hingegen waren die Keimlinge des Kontrollversuches insgesamt (14 an der Zahl) stark gewachsen und wiesen kräftige geotropische Krümmungen auf. Wurzel im unteren Teil ganz weiß, Wurzelspitze normal. Die Keimblätter stark verlängert und nur noch mit der Spitze in der Samenschale steckend.

Pinus picea. Fast alle Samen keimten aus. Nach 10 Tagen wurde eine Trennung in 2 Portionen, die in 2 Schalen kamen, vorgenommen.

Die mit Schwefelkohlenstoff versetzten Keimlinge waren nach 5 tägiger Versuchsdauer noch nicht geschädigt.

Es war freilich auch kein Schwefelkohlenstoffgeruch mehr wahrzunehmen; die paar Tropfen Schwefelkohlenstoff, die zugesetzt worden waren, hatten sich inzwischen völlig verflüchtigt.

Ein erneuter Zusatz von Schwefelkohlenstoff zur einen Schale erzeugte dann aber deutliche schädliche Wirkung.

Nach weiteren 3 Tagen wurden, weil auch die zweite Dosis Schwefelkohlenstoff wieder verraucht war, zum dritten Male einige Tropfen Schwefelkohlenstoff zugesetzt zur einen Schale.

Nach weiteren 24 Stunden zeigten nun die 14 Keimlinge in der Schwefelkohlenstoffschale die Anzeichen des Todes. Alle Gewebe derselben waren schlaff geworden, die Hauptwurzel war bis zur Spitze braun. Keine geotropische Bewegung war (seit dem zweiten Zusatz von Schwefelkohlenstoff) eingetreten. Der Stengel und die Keimblätter waren nicht weitergewachsen.

Hingegen zeigten beim Kontrollversuch alle Pflanzen starkes Wachstum aller Teile und scharfe geotropische Krümmungen.

Larix europaea. Die in Wasser aufgekeimten Samen wurden auf 2 Schalen, wie immer, verteilt, wovon die eine Schwefelkohlenstoffzusatz erfuhr (alle 24 Stunden wurden einige Tropfen aufs Papier gegeben).

Die auf dem angefeuchteten Filtrierpapier liegenden Keimlinge erfuhren in einem Falle, nämlich wo kein Schwefelkohlenstoff zugesetzt war, ein normales Wachstum; Wurzel, Stengel, Keimblätter streckten sich rasch und führten geotropische Krümmungen aus.

Die Keimlinge des Schwefelkohlenstoffversuches aber zeigten schon nach 2 Tagen abgestorbene, gebräunte Wurzelspitzen; vielfach fingen auch der Stengel und die Keimblätter schon an, sich zu verfärben. An den Samen, bei denen zur Zeit des ersten Schwefelkohlenstoffzusatzes die Keimwurzel noch nicht hervorgetreten war, kam dieselbe auch nachher nicht heraus.

Der Schwefelkohlenstoff hatte also sehr ungünstig gewirkt.

Etwas widerstandsfähiger erwiesen sich die Keimlinge von der Schwarzkiefer, Pinus austriaca.

Hier war 2 Tage nach dem ersten Schwefelkohlenstoffzusatz noch keine erhebliche Differenz zu bemerken.

Als nun weiterhin jeden Tag von neuem Schwefelkohlen-

stoff zugegeben wurde, zeigte sich am fünften Tage (von Anfang an gerechnet) ein deutlicher Unterschied, wenn auch nicht so ausgeprägt wie bei anderen Keimlingen.

Die Wurzelspitzen einiger Keimlinge waren bräunlich und schlaff geworden, also abgestorben.

Keiner der Keimlinge konnte sich an Länge mit den Kontrollkeimlingen vergleichen.

Die Keimblätter hatten sich nirgends aus der Samenschale hervorgehoben, während dies bei den Kontrollpflanzen der Fall war.

Eine erhebliche geotropische Krümmung war nicht ausgeführt worden, während im Kontrollversuch eine solche sehr deutlich eingetreten war.

Versuche mit Topfpflanzen: Keimlinge von Abies Nordmanniana, Pinus Strobus, Thuja occidentalis wurden von einem Gärtner bezogen und dann in Töpfe gepflanzt und gezogen, bis sie 2 Tage im Topfe gewesen waren.

Dann wurde die Hälfte derselben in der gewöhnlichen Weise weiter gezogen, die andere Hälfte unter zeitweisem Schwefelkohlenstoffzusatz (alle 24 Stunden).

Abies Nordmanniana. Die Pflanzen waren mit Wurzel ca. 10 bis 15 cm lang.

Nach 12 tägiger Versuchsdauer waren an den Schwefelkohlenstoffkeimlingen einige Blätter vergilbt, an den Kontrollpflanzen nicht.

Die Schwefelkohlenstoffpflanzen hatten ein längeres und viel reicher verzweigtes Wurzelsystem als die Kontrollpflanzen.

Die letzteren machten auch im ganzen einen kräftigeren Eindruck als die ersteren.

Thuja occidentalis ließ nach 12 Tagen eine Differenz zwischen den beiderlei Pflanzen erkennen, die schon ohne weitere Untersuchung an den Topfpflanzen zu sehen war. Die Schwefelkohlenstoffpflanzen zeigten einzelne vergilbte Blätter und Zweigspitzen, während solche bei den Kontrollpflanzen nicht zu bemerken waren.

Im übrigen war der oberirdische Teil der Schwefelkohlenstoffpflanzen noch ziemlich gut erhalten.

Dagegen zeigte sich in den Wurzeln, den zunächst betroffenen Teilen, eine größere Differenz.

Als die Erde weggewaschen war, wies jede Kontrollpflanze an ihrem Wurzelsystem mindestens eine, meist 3 bis 5 frisch heraustreibende Wurzelspitzen auf, die mit ihrer weißen Farbe deutlich von den sonst braunen Wurzelteilen abstachen. Die Schwefelkohlenstoffpflanzen zeigten nichts dergleichen.

Sehr deutlich war die Differenz auch bei Pinus Strobus.

Nach 12 tägiger Versuchsdauer waren die Schwefelkohlenstoffpflanzen durchaus in der Entwicklung zurückgeblieben; sie waren kleiner und schwächer als die andern.

Ferner zeigten sich bei den ersteren viele Blätter vergilbt.

Das Wurzelsystem war bei den Kontrollpflanzen weit kräftiger herangewachsen.

Ahorn. Zwei möglichst gleiche Keimpflanzen von Ahorn wurden in Töpfe gepflanzt, einige Tage nur mit Wasser begossen, dann erst verschieden behandelt.

Die eine Keimpflanze wurde weiter mit Wasser begossen, bei der andern wurde die Erde von Zeit zu Zeit (alle 24 Stunden) mit Schwefelkohlenstoff betropft.

Nach 6 Tagen zeigte sich eine beträchtliche Schädigung der Schwefelkohlenstoffpflanze, während die andere intakt war.

Am 7. Tage ergab die Untersuchung, daß das Wurzelsystem an der ersteren keine weitere Entwicklung zeigte, während das der Kontrollpflanze sehr schön entwickelt war und viele neue Wurzelspitzen trieb. Die oberirdischen Teile der Schwefelkohlenstoffpflanze waren vertrocknet, die Blätter eingerollt und klein. Es war also die Wasseraufnahme aus dem Boden gestört worden.

Im großen und ganzen kann man also sagen, daß der Schwefelkohlenstoff auf die genannten Pflanzen schädlich wirkt, namentlich bei wiederholtem Zusatz.

Nun fragt sich, ob ein Maß von Schwefelkohlenstoff gefunden werden kann, das den Pflanzen nicht schadet.

Es muß die Verdünnung ausfindig gemacht werden, bei der der Schwefelkohlenstoff noch unschädlich ist.

Gibt es auch eine Verdünnung, bei der derselbe eine Reizwirkung ausübt?

Der Schwefelkohlenstoff wird als in Wasser nahezu unlöslich bezeichnet.

Doch lassen sich Lösungen von bestimmter geringer Konzentration herstellen.

Ich vermischte $^1/_8$ g Schwefelkohlenstoff mit 1 ccm absolutem Alkohol und goß diese Lösung unter Umrühren in 1 l destillierten Wassers. Es entstand eine klare Flüssigkeit, worin der CS_2 in der Verdünnung von 0,02 $^0/_0$ vorhanden war.

Von da gelangte ich durch Wasserzusatz zu den Verdünnungen von 0,01 und 0,005 $^0/_0$.

Schwefelkohlenstoff	Versuche mit Kresse	Versuche mit Gerste
0,02 $^0/_0$	Nach 3 Tagen: Keimlinge nur wenig zurück hinter dem Kontrollversuch (siehe diesen unten). Nach 4 Tagen: Noch etwas zurück, Keimlinge aber gesund.	Nach 3 Tagen: Mit Kontrollversuch ungefähr gleich, zurück. Nach 4 Tagen: Noch etwas zurück, Keimlinge aber gesund.
0,01 $^0/_0$	Nach 3 Tagen: Keimlinge mit Kontrollversuch gleich. Nach 4 Tagen: Ebenso.	Nach 3 Tagen: Keimlinge mit Kontrollversuch gleich. Nach 4 Tagen: Ebenso.
0,005 $^0/_0$	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 3 $^1/_2$ cm, Stengel bis 1 cm lang (Keimlinge schienen etwas weiter gediehen als beim Kontrollversuch). Nach 4 Tagen: Differenz noch größer.	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 2 $^1/_2$ cm, Keimstamm bis 1 cm lang; Keimlinge offenbar voran gegen Kontrollversuch. Nach 4 Tagen: Differenz noch größer. CS_2 von 0,05 $^0/_0$ fördert offenbar.
Kontrollversuch	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 3 cm, Stengel bis $^1/_2$ cm lang.	Nach 3 Tagen: Wurzel bis $^3/_4$ cm lang, Keimstamm noch kaum hervorgetreten.

Hiernach gibt es bei Schwefelkohlenstoff eine Verdünnung, durch die die Keimlinge der Gerste und der Kresse im Wachstum gefördert werden, nämlich 0,005 $^0/_0$.

Da durch Schwefelkohlenstoffzusatz zum Boden der Ertrag bis um 75 $^0/_0$ gesteigert werden kann, was bisher hauptsächlich oder allein auf eine günstige Einwirkung des Schwefelkohlenstoffes auf die Mikroorganismenflora des Bodens zurückgeführt wurde, so gewinnt hierdurch die angeführte Tatsache einige

praktische Bedeutung. Die Pflanzen werden auch direkt durch Schwefelkohlenstoff in großen Verdünnungen gefördert, wenigstens die Gerste und die Kresse. Ich zweifle nicht daran, daß noch zahlreiche andere Pflanzen gefunden werden, die eine Wachstumsförderung durch ihn erfahren, wenn er in richtiger Verdünnung angewandt wird.

Zu ähnlichen Ergebnissen ist auch Edwin Brown Fred[1]) bei seinen Versuchen gekommen.

Er erwähnt[2]) zunächst, daß Egorow bei Anwendung geringer Mengen von Schwefelkohlenstoff im Wasser ein vermehrtes Längenwachstum etiolierter Hypokotyle von Helianthus annuus und Cucurbita Pepo erhalten habe.

Egorow fand, daß Schwefelkohlenstoff und Äther in Konzentrationen von 0,03 bis 0,06 pro 1 l Wasser eine Reizwirkung ausüben.

Fred verwandte zu seinen Versuchen Maispflanzen.

Das Gift wurde in sehr kleinen Mengen den (Tollensschen) Nährlösungen zugesetzt.

Jeden 5. Tag wurde die Nährlösung erneuert.

Zuerst wurde der Schwefelkohlenstoff zu 1 : 10000000 zugefügt.

Bei jeder Erneuerung wurde der Zusatz gesteigert, bis der gewünschte Gehalt erreicht war.

Acht Wochen ließ man die Pflanzen wachsen, nach welcher Zeit sich der Fruchtstand zu bilden begann.

Darauf wurden die ganzen Pflanzen herausgenommen und gewogen.

Das Wachstum aller Pflanzen war bei Konzentrationen über 1 : 10000 (d. i. 0,01 $^0/_0$) gehemmt.

Schwefelkohlenstoff von 0,001 $^0/_0$ bewirkte gerade das Gegenteil; die Erntegewichte wurden dann größer (Verhältnis 46 : 67).

Von dieser Verschiedenheit im Erntegewicht abgesehen, zeigten die CS_2-Pflanzen eine viel dunklere Farbe und verbrauchten viel mehr Nährlösung.

Es liegt demnach höchstwahrscheinlich eine Reizwirkung vor.

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. 31.

[2]) a. a. O. S. 235.

Über den Einfluß verschiedener Substanzen auf die Keimung der Pflanzensamen. Wachstumsförderung durch einige.

III. Mitteilung.

Von

Th. Bokorny.

(Eingegangen am 23. Februar 1913.)

Methylalkohol und verwandte Stoffe.

Bei Konzentrationen des Methylalkohols von 2 bis 5 % wachsen noch manche Pilze.

Derselbe scheint also für Mikroorganismen nicht oder wenig schädlich zu sein. Ja, manche Algen können mit Methylalkohollösungen von 0,1 bis 0,5 % ernährt werden. Es gibt ferner Spaltpilze, die mit Methylalkohol als einziger Kohlenstoffquelle auskommen und sich darin vortrefflich entwickeln[1]).

Ein Vorversuch mit Wasserkulturen verschiedener Blütenpflanzen zeigte mir, daß dieselben durch 0,5 bis 2 % Methylalkoholzusatz zur Nährlösung wochenlang nicht beeinflußt werden.

Wie sich nun Keimlinge gegen Methylalkohol verhalten, mag aus folgender tabellarischer Zusammenstellung hervorgehen, worin meine früheren und auch die neuesten Untersuchungen über diesen Punkt kurz aufgeführt sind.

Erfahrungen über andere Alkohole und ähnliche Stoffe seien angefügt. Die Keimlinge wurden als Wasserkulturen (mit Nährsalz) 8 bis 14 Tage lang gezogen.

---

[1]) Verfasser im Centralbl. f. Bakt. 1911.

	Feuerbohnen (Phaseolus multiflorus)	Erbsen	Feldbohnen (Phaseolus vulg.)	Sojabohnen	Rettich	Fichte
Methylalkohol 10%	Eingebrachte Keimlinge von 5 cm Hauptwurzellänge starben mit ihrem Wurzelteil binnen 2 Tagen ab, Wurzeln dann schlaff. Stengel nach 3 Tagen schlaff.					
Methylalkohol 5%	Die Keimlinge zeigen erst nach 8 Tagen eine ungünstige Beeinflussung der Wurzel.					
Methylalkohol 1%		Wurzeln und Stengel entwickeln sich bei Wasserkulturen kräftig. als im Kontrollvers.	Bessere Entwicklung der Keimlinge als beim Kontrollversuch.		Ein Unterschied gegenüber dem Kontrollvers. nicht zu bemerken.	
Methylalkohol 0,5%		Wie bei 1% Methylalkohol.	Bessere Entwicklung der Keimlinge als beim Kontrollversuch.	Kräftige Entwicklung der Keimlinge	Mit Kontrollversuch gleich.	Keimlinge voran gegen Kontrollversuch.
Methylalkohol 2%			Bessere Entwicklung der Keimlinge, namentlich der Blätter, als beim Kontrollversuch.		Mit Kontrollversuch gleich.	

Im großen und ganzen kann man über den Methylalkohol sagen, daß er das Wachstum der Keimlinge fördert, wenn er in der Konzentration 0,5 bis 2% der mineralischen Nährlösung beigemischt ist.

Selbst 5% schädigt Feuerbohnenkeimlinge erst nach längerer Zeit.

Da der Methylalkohol bei Algen und Pilzen als organische Nahrung (Kohlenstoffquelle) sich erwiesen hat, ist der fördernde Einfluß auf Keimlinge wohl der ernährenden Wirkung dieses Stoffes zuzuschreiben.

Eine Reizwirkung ist also hier wohl nicht anzunehmen.

Der Gegensatz zu der bekannten schädlichen Wirkung des Methylalkohols auf höhere Tiere und den Menschen ist wohl

darauf zurückzuführen, daß derselbe in den Pflanzen keine Oxydation zu Ameisensäure erfährt.

Der Äthylalkohol ist schädlicher für Pflanzen, speziell Keimlinge, als der Methylalkohol, wie aus folgender Tabelle hervorgeht:

Die Versuche wurden ebenfalls mit Wasserkulturen unter gewöhnlichem Nährsalzzusatz gemacht.

	Bohnen
Äthylalkohol 2%	Nach 14 Tagen: Wurzel verkümmert, Stengel gleich mit dem Kontrollversuch. Nach 4 Wochen: Keimlinge offenbar geschädigt, am Vertrocknen.
Äthylalkohol 1%	Nach 14 Tagen: Wurzel kürzer und dicker, Stengel gleich mit dem Kontrollversuch. Nach 4 Wochen: Keimlinge in der Entwicklung stehen geblieben, am Vertrocknen.
Äthylalkohol 0,5%	Wurzel- und Stengelbildung ziemlich überlegen gegen den Kontrollversuch. Nach 4 Wochen: Keimlinge normal weiter entwickelt, aber nicht besser entwickelt als die Kontrollkeimlinge.

Demnach ist Äthylalkohol, wenn er in größerer Menge als 0,5% zur Nährlösung zugesetzt wird, für Bohnenkeimlinge schädlich.

Von 0,5% an schadet er nicht mehr, bewirkt aber kein stärkeres Wachstum.

Mit Propylalkohol stellte ich nur einen Versuch an, und zwar mit 2% Propylalkoholzusatz zur Nährlösung.

Nach 14 Tagen waren die Keimpflanzen abgestorben.

Isobutylalkohol erwies sich schon bei 0,5% als schädlich.

Rettichkeimlinge begannen nach 4 Tagen schon an Stengelspitze und den jungen Blättern Absterbeerscheinungen zu zeigen. Nach 6 Tagen war das obere Fünftel des Stengels schlaff und eingeschrumpft.

Mit Amylalkohol machte ich ähnliche Erfahrungen.

Rettichkeimlinge, die in einer mit 0,5% Amylalkohol versetzten Nährlösung aufgezogen wurden, zeigten nach 4 Tagen eine abgestorbene Stengelspitze. Nach weiteren 2 Tagen war auch das ganze obere Drittel des Stengels schlaff.

Sehr schädlich ist Amylacetat, der Essigsäureester des Amylalkohols. Es hat starken Fruchtäthergeruch und löst sich

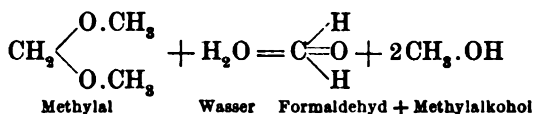
nur wenig in Wasser auf. Ich versuchte 0,5 % und 1 % in mineralischer Nährlösung aufzulösen; es blieb aber in beiden Fällen ein beträchtlicher Teil des Amylacetats ungelöst. Trotzdem genügte in beiden Fällen die gelöste Quantität, um die Keimpflanzen des Rettichs binnen kurzer Zeit zu töten. Nach 12 Stunden waren die Keimlinge total abgestorben.

Bezüglich der Einwirkung der Alkohole auf Keimlinge scheint in der Tat das zuzutreffen, was in der medizinisch-chemischen Literatur bisher angenommen wurde, daß nämlich die Giftigkeit der Alkohole mit der Zahl der Kohlenstoffatome im Molekül zunimmt. Demnach wäre Methylalkohol am wenigsten schädlich, dann kämen der Äthylalkohol, der Propylalkohol usw.

Daß Methyl- und Äthylalkohol relativ wenig schaden, sieht man auch an Infusorien, die 1 %ige Lösungen längere Zeit, manchmal mehrere Tage ertragen. Algen ertragen eine 2 %ige Lösung bis 24 Stunden, mit Methylalkohol lassen sich Algen sogar ernähren, ebenso Bakterien. Bei Propylalkohol und noch mehr bei höheren Alkoholen muß man zur Verdünnung 0,2 bis 0,1 % greifen, um die Algen einige Zeit darin erhalten zu können. Eine Ernährung tritt aber nicht ein bei Algen und Bakterien, hingegen erhielt ich Schimmelvegetationen mit 0,2 %igem Propylalkohol als einziger Kohlenstoffquelle. 0,2 % Amylalkohol ernährt auch Bakterien.

Notiz über die Ernährung von Kohl-Topfpflanzen mit Methylal.

Das Resultat dieser auf 6 Monate ausgedehnten Versuche soll hier kurz niedergelegt werden, da quantitative Versuche über organische Ernährung von grünen Blütenpflanzen bis jetzt sehr wenig gemacht wurden, und weil das Methylal als Formaldehyd abspaltende Substanz von besonderem Interesse ist



Die Versuche wurden an Topfpflanzen von Kohl (Brassica rapa) ausgeführt. Dieselben gelangten am 7. Juni 1912 als kleine, selbst aus Samen gezogene Pflänzchen zur Einflanzung und wurden am 13. Dezember, als kein weiteres Wachstum

mehr wahrscheinlich erschien, sondern ein Zugrundegehen durch die Kälte drohte, aus der Erde gehoben, sorgfältig von anhängenden Erdpartikelchen befreit und dann zur Abwägung gebracht.

Nachher wurden die Pflanzen durch Auslegen an warmer Luft getrocknet. Nachdem sie ganz trocken geworden waren, wurden sie nochmals gewogen. Man sieht deutlich den günstigen Einfluß der Methylalernährung.

		Lebendgewicht der ganzen Pflanzen g	Trockengewicht nach Trocknen an warmer Luft g
Mit Methylal ernährt	1. Kohlpflanze (Karviol)	65,0 Stengel 30 cm lang, schließlich (bei Hereinnehmen der Pflanze ins Zimmer) zu Blütenstand auswachsend.	12,95
	2. " (Kohlrabi)	69,0	13,30
	3. " (Weißkraut)	24,5	4,85
	4. "	39,5	7,50
	5. "	30,0	5,85
	6. " (Weißkraut)	21,0	3,76
	7. " "	22,0	4,55
Ohne Methylal	8. Kohlpflanze (Kohlrabi)	57,0	9,90
	9. " (Weißkraut)	12,0	2,40
	10. " "	11,5	1,95
	11. " "	11,0	1,80
	12. " "	3,5	Verunglückt
	13. " "	7,5	"
	14. " "	5,0	"

Methylal.

Phaseolus multiflorus und Methylal. Mineralische Nährlösung 0,1 % + Methylal 0,5 % wurde zunächst versucht. Die 14 Tage alten Keimpflanzen wurden in diese Nährlösung verbracht (6. März 1911). Nach Ablauf von weiteren 14 Tagen war die Keimpflanze normal entwickelt. Wurzel nicht verpilzt. Ein zweiter Versuch derselben Art war ähnlich, nur zeigte sich an der Oberfläche der Nährflüssigkeit und an der frei gewordenen Glaswand eine Haut (Pilz?). Nun wurden die Kotyledonen entfernt. Die Pflanze wuchs nun noch eine Zeitlang weiter, zeigte dann Stillstand und war Mitte Juni an den oberirdischen Teilen völlig vertrocknet.

Demnach kann man sagen, daß Methylal in der Stärke 0,5 % nicht schädlich auf Keimlinge wirkt. Ja, es ernährt sogar.

Freilich kann man den Keimling mit Methylal als einziger Kohlenstoffquelle nicht ernähren, wie der Verlauf des Versuches nach dem Abschneiden der Kotyledonen zeigt.

Das Methylal wurde von mir früher als ernährend (stärkebildend) bei Spirogyren erkannt[1]).

Phaseolus multiflorus und Methylal. Diesmal wurde eine mineralische Nährlösung von 0,1 % unter Zusatz von 1 % Methylal verwendet. Nach 14tägiger Keimung im Brunnenwasser wurde die Pflanze in diese Nährlösung überführt (16. März 1911). Bei 14 Tage währendem Aufenthalt in derselben nahm die Entwicklung einen normalen Verlauf. Wurzel reichlich verzweigt, ohne Verpilzung. Lösung klar. Nun wurden die Kotyledonen entfernt. Auch hier ging die Entwicklung nicht sehr weit voran. Mitte Juni zeigten sich die oberirdischen Teile größtenteils vertrocknet. Immerhin waren um diese Zeit noch zwei grüne Zweige an der Basis des Stengels sichtbar, deren Blätter aber auch schon größtenteils verdorrt waren.

Also ist sogar 1 % Methylal für Keimpflanzen unschädlich.

Die Entfernung der Kotyledonen hat auch hier wieder sehr nachteilig auf das Leben der Keimlinge gewirkt.

Es ist meines Wissens bis jetzt überhaupt noch nicht geglückt, die Ernährung der Keimlinge aus den Kotyledonen durch eine solche von außen zu ersetzen.

Ich habe bis jetzt beim vorzeitigen Abnehmen der als Nahrungsspeicher sich verhaltenden Kotyledonen nur ungünstige Erfahrungen gemacht.

Woran das liegt, ist vorläufig nicht zu sagen.

An der Art der Nahrung kann es kaum liegen.

Denn man kennt ja die Nährstoffe der Keimlinge, wie Zucker, Amidokörper, Salze, und kann dieselben in geeigneter Verdünnung zuführen.

Eher liegt es wohl an der Art der Zuleitung.

Letztere ist wohl eine günstigere, wenn sie von den Kotyledonen aus geschieht als durch die Wurzeln aus einer diese umspülenden Lösung.

Weitere Versuche sollen gelegentlich ausgeführt werden.

---

[1]) Diese Zeitschr. **36**, 83, 1911.

Phaseolus multiflorus und oxymethylsulfonsaures Natrium. Zunächst versuchte ich einen Zusatz von oxymethylsulfonsaurem Natrium zur mineralischen Nährlösung ohne gleichzeitigen Zusatz von Dinatriumphospat.

Versuch vom 4. April 1911: Der 14 Tage alte Keimling einer Feuerbohne wurde in mineralische Nährlösung von 0,1 % + 0,5 % oxymethylsulfonsaurem Natrium verbracht (13. März 1911). Der Keimling verhielt sich zunächst normal, er entwickelte sich weiter.

Nach 18 Tagen aber zeigte sich eine Schädigung der unteren zwei Blätter. Wachstum der Pflanze sonst normal. Um eine weitere Schädigung zu vermeiden, fügte ich der Lösung noch 0,2 % Dinatriumphosphat zu, da ja das abgespaltene saure schwefligsaure Natrium höchstwahrscheinlich den Schaden verursachte. Die Kotyledonen wurden nun entfernt. Die Pflanze wuchs nun einige Zeit weiter, ging aber schließlich doch ein. Nach weiteren 28 Tagen, also 46 Tage nach Einsetzen des Keimlings in die Nährlösung, war die Pflanze völlig verdorrt in den oberirdischen Teilen; die Länge des Stengels betrug nun 24 cm; die zahlreichen Wurzeln waren schlaff und abgestorben, stärkeleer. Die Konzentration 0,5 % oxymethylsulfonsaures Natrium ist also schädlich.

Versuch vom 4. April 1911: Ebenso wie vorhin, aber nur 0,1 % oxymethylsulfonsaures Natrium. Die Konzentration des oxymethylsulfonsauren Natrons war also 5 mal schwächer als im vorigen Versuch.

Nach 14 Tagen zeigten sich auch die unteren Blätter der inzwischen bis zur doppelten Höhe herangewachsenen Pflanze geschädigt. Auch hier wurde jetzt Dinatriumphosphat zugesetzt, und zwar 0,03 %. Die Kotyledonen wurden nun entfernt. Nach weiteren 45 Tagen war die Pflanze noch am Leben und normal gewachsen, ungefähr ebenso wie ein gleichzeitig aufgestellter Kontrollversuch. Etwa $^1/_8$ der ursprünglich 500 ccm betragenden Nährlösung war aufgesaugt worden.

Das oxymethylsulfonsaure Natron ist also bei der Verdünnung 0,1 % für den Keimling unschädlich, ja es wirkt sogar ernährend.

Bei Algen habe ich das schon früher[1]) festgestellt.

[1]) Diese Zeitschr. 36, 83, 1911.

Da das oxymethylsulfonsaure Natron Formaldehyd abspaltet, so ist mit obigem Versuch auch eine Formaldehydernährung bei Keimlingen erwiesen.

Formaldehyd.

	Kresse
Kontroll-versuch	Nach 4 Tagen: Wurzel bis 4 1/2 cm lang, Stengel bis 1 1/2 cm messend.
Formaldehyd 0,1 %	Nach 4 Tagen: Samen über das allererste Keimungsstadium nicht hinausgekommen, offenbar abgestorben.
Formaldehyd 0,01 %	Nach 4 Tagen: Keimung weit zurück hinter der im Kontrollversuch. Wurzel nur bis 1/4 cm lang, Stengel 2 bis 3 mm.

Es handelt sich also hier um einen eminent giftigen Stoff der sogar in der Verdünnung 0,01 % noch stark hemmend auf den Keimungsvorgang einwirkt.

O. Loew sagt darüber[1]): „Es kommt bei den Aldehyden sehr auf den Labilitätsgrad an, ob sie giftig wirken oder nicht. In dem nährenden Traubenzucker haben wir eine wenig energische, im giftigen Formaldehyd aber eine sehr labile und reaktionsfähige Substanz vor uns.

Im allgemeinen kann man sagen, daß „negative“ Gruppen die Energie und Reaktionsfähigkeit der Aldehydgruppe im Molekül abschwächen.

Aldehydgruppen greifen mit Vorliebe in labile Amidogruppen ein und liefern stickstoffhaltige Derivate.

Nun kann man sich leicht überzeugen, daß schon in den passiven Eiweißstoffen ein Teil des Stickstoffes in Form von Amidogruppen vorhanden ist; denn beim Behandeln (z. B. des Peptons) mit salpetriger Säure entweicht viel gasförmiger Stickstoff, was nicht der Fall wäre, wenn sämtlicher Stickstoff sekundär oder tertiär gebunden wäre.

Was den Formaldehyd betrifft, so zeichnet er sich schon dadurch aus, daß er mit Propepton und bei Anwesenheit von etwas Salzsäure, auch mit Eiweiß sehr schwer lösliche Verbindungen liefert.

1) Giftwirkungen S. 58.

Er wirkt auch auf neutrale Ammoniaksalze ein unter Bildung von Hexamethylentetramin.

Je labiler aber die Amidogruppen, desto energischer wird er eingreifen."

Auf Spaltpilze und Algen wirkt er noch bei sehr großer Verdünnung tödlich, nämlich bei 0,01 $^0/_0$, ebenso auf Asseln, Würmer und Mollusken.

Auch die Wirksamkeit der Enzyme wird von ihm vernichtet.

H. Buchner, Trillat und Aronson[1]) beobachteten später die stark giftige Wirkung des Formaldehydes auf pathogene Bacillen.

Typhusbacillen werden noch bei einer Verdünnung des Formaldehydes von 1:20000 getötet und noch bei 1:40000 in ihrer Entwicklung geschwächt.

Meine eigenen Versuche haben ebenfalls immer eine große Giftigkeit des Formaldehydes ergeben.

Der Formaldehyd gehört zu den stärksten Giften und wirkt anscheinend gleich stark auf alle lebenden Organismen.

Vom Verfasser wurde schon kürzlich und auch früher hervorgehoben, daß man daraus nicht auf die Unrichtigkeit der Bayerschen Assimilationshypothese schließen darf, wonach der Formaldehyd ein Zwischenprodukt bei der Kohlensäureassimilation ist.

Denn es kann mit Recht angenommen werden, daß ein so reaktionsfähiger Körper sofort verschwindet und in andere (nicht giftige) Produkte übergeht. Durch Kondensation kann daraus Kohlenhydrat werden, durch Verbindung mit Asparagin und ähnlichen Amiden kann aus ihm Eiweiß entstehen[2]).

Besonders interessant ist in dieser Hinsicht das Verhalten verschiedener Pflanzen, auch Keimlinge, gegen oxymethylsulfonsaures Natron.

Diese Substanz wird im Pflanzenkörper gespalten unter Freiwerden von Formaldehyd.

Die Spaltung kann an der ernährenden Wirkung, wie auch an dem angestifteten Schaden, wenn die Neutralisation des

[1]) Centralbl. f. Bakt. 1892.

[2]) Siehe O. Loew, Eiweißbildungshypothese.

sauren Natriumsulfites (mit Dikaliumphosphat) unterbleibt (siehe die vorhin beschriebenen Versuche), gemessen werden.

Die Giftwirkung des Formaldehydes auf Keimlinge und andere Pflanzen, noch bei 0,01 $^0/_0$, ist demnach so zu verstehen, daß der Formaldehyd, wenn er von außen in dieser Menge zugeführt, nicht ganz durch die jedenfalls sofort eintretende Assimilation beseitigt wird.

Der nicht assimilierte Anteil bringt die schädliche Wirkung hervor.

Will man die Giftwirkung des Formaldehydes umgehen, so muß man zu sehr großen Verdünnungen, wie 0,002 $^0/_0$, greifen, bei denen eine leicht merkliche, an der Stärkeanhäufung erkennbare Ernährung nicht mehr zustande kommt.

Bei grünen Pflanzen ist dann die Kohlensäureassimilation so überwiegend (falls man Licht und Luft zutreten läßt), daß eine merkliche Ernährungswirkung des Formaldehydes nicht erfolgt.

Ich zweifle allerdings nicht daran, daß auch der freie Formaldehyd ernährt, wenn er in sehr großer Verdünnung angewendet wird.

Keimlinge sind zu solcher Beobachtung jedenfalls kein geeignetes Objekt, obwohl sie zuerst chlorophyllfrei sind und also keine Kohlensäure assimilieren können.

Denn sie werden durch die in ihnen reichlich vorhandenen Kohlenhydrate so ausgiebig ernährt, daß die Formaldehydernährung nicht bemerkt wird.

Läßt man die Keimlinge größer werden, dann bildet sich das Blattgrün und nun tritt Kohlensäureassimilation ein, und zwar mit solcher Ausgiebigkeit, daß sie die Formaldehydassimilation verdeckt.

Man müßte nur die Keimlinge im Dunkeln aufziehen, dann dürfte sich wohl ein Unterschied zwischen Kontrollkeimlingen und Formaldehydkeimlingen ergeben.

Es wäre wohl von Interesse, diesen Versuch zu machen.

Was die Erklärung der großen Giftigkeit des Formaldehydes anbelangt, so dürfte es wohl schwer sein, eine andere Deutung als die von O. Loew gegebene zu finden.

Mir ist bis jetzt keine anderweitige Erklärung zur Kenntnis gekommen.

So führt denn die Beobachtung über die äußerst schädliche Einwirkung des Formaldehydes auf Keimlinge zu einer Betrachtung des innersten Wesens der Pflanzenzelle, der chemischen Beschaffenheit des Protoplasmas.

Nur wenn man sich darüber Rechenschaft gibt, kann ein Verständnis dieser merkwürdigen, auch bei zahlreichen andern Objekten (die Tiere nicht ausgeschlossen) beobachteten Giftwirkung angebahnt werden.

Verfasser war nicht erstaunt über die schädliche Wirkung des Formaldehydes auf Keimlinge.

Denn dieselbe Schädlichkeit des Formaldehydes ist schon früher bei anderen Pflanzenobjekten und auch bei Tieren gefunden worden.

Ameisensäure.

Gegen die Ameisensäure, $H.CO_2H$, sind niedere Organismen sehr empfindlich, wahrscheinlich wegen ihrer Aldehydnatur.

Die Fäulnis der Gelatine wird verhindert durch 0,25 % und die Entwicklung mancher pathogener Bakterien soll schon durch 0,006 % Ameisensäure verhindert werden.

Nach meinen eigenen Versuchen wirkt schon 0,01 %ige freie Ameisensäure (Neutralisation ist hier überflüssig wegen der starken Verdünnung) auf Algen binnen 3 Tagen giftig ein.

Cladophora und Vaucheria waren nach 3tägigem Aufenthalt in der Lösung abgestorben.

Conferva freilich blieb am Leben, desgleichen viele Infusorien und Diatomeen.

Die Gärung des Rohrzuckers wird verhindert durch 0,05 % Ameisensäure.

Auffallend groß ist der Unterschied gegenüber der nahestehenden Essigsäure, $CH_3.CO_2H$.

Diese ist in neutralisierter 0,1 %iger Auflösung für Cladophora, Vaucheria, Diatomeen, Infusorien, Würmer usw. nach meiner Beobachtung gar nicht schädlich.

Nach 48stündigem Aufenthalt in der Lösung waren die genannten Organismen noch völlig intakt; auch nach weiteren 2 Tagen in der Lösung zeigte sich an den genannten

Organismen noch keine bemerkbare Verminderung der Lebensfähigkeit.

Auch Propionsäure, $C_2H_5.CO_2H$, scheint, neutralisiert, nicht erheblich schädlich für niedere Pflanzen und Tiere zu sein.

In einer 0,1 %igen mit Kali neutralisierten Lösung dieser Säure blieben Algen und niedere Tiere 18 Stunden lang am Leben. Die Algen assimilierten lebhaft und schwammen, von Sauerstoffbläschen getragen, obenauf. Sogar nach 48 Stunden waren die meisten Algenfäden noch am Leben (Vaucheria und Cladophora größtenteils mehr), sie assimilierten noch, und die auf den Fäden aufsitzenden Vorticellen zeigten eine lebhafte Beweglichkeit. Nach weiteren 2 Tagen war ebenfalls noch Leben vorhanden.

Somit kann von einer erheblichen Schädlichkeit der Propionsäure nicht die Rede sein.

Die Säurewirkung derselben, die vermutlich nicht sehr groß ist[1]), kann durch Neutralisieren ausgeschaltet werden.

Aus nachstehenden Versuchen geht hervor, daß 0,1 % Ameisensäure die Keimung verhindert, 0,025 % nur noch wenig, 0,01 % gar nicht hemmt.

	Gerste	Linse	Kresse	Kohl
Kontrollversuch	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 5 1/2 cm, oberird. Teil bis 2 cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Stengel bis 3/4 cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 5 cm, Stengel bis 4 cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 1/2 cm lang.
Ameisensäure 0,1 %	Nach 6 Tagen: Keimung unterblieben.	Nach 6 Tagen: Keimung unterblieben.	Nach 6 Tagen: Keimung unterblieben.	Nach 6 Tagen: Keimung unterblieben.
Ameisensäure 0,025 %	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 3 1/2 cm, Stengel bis 3 cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 1 cm, Stengel bis 3/4 cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 3 cm, Stengel bis 2 cm lang.	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 1/2 cm lang.
Ameisensäure 0,01 %	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 5 1/2 cm, Stengel bis 2 cm lang.	Nach 6 Tagen:	Nach 6 Tagen: Wurzel bis 4 cm, Stengel bis 3 cm lang.	

1) Siehe hierüber den Schluß dieses Abschnittes.

	Kresse	Gerste	Linse	Kohl
Kontrollversuch	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1 3/4 cm, Stengel bis 1 cm lang.	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1 1/2 cm lang.	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1/2 cm lang.	Nach 3 Tagen tritt nur bei wenigen die Wurzel eben hervor.
Ameisensäure 0,1 %	Nach 3 Tagen: Nicht gekeimt.	Nach 3 Tagen: Nicht gekeimt.	Nach 3 Tagen: Nicht gekeimt.	Nach 3 Tagen: Nicht gekeimt.
Ameisensäure 0,025 %	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1/2 cm, Stengel bis 3/4 cm lang.	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1 1/2 cm lang.	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1/2 cm lang.	Nach 3 Tagen: Wie Kontrollversuch.
Ameisensäure 0,01 %	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 3 cm, Stengel bis 1 cm lang.	Nach 3 Tagen: Wurzel bis 1 1/2 cm lang.	Nach 3 Tagen: Verunglückt.	Nach 3 Tagen: Wie Kontrollversuch.

Es zeigt sich, daß Keimlinge manchmal erst dann ungeschädigt bleiben, wenn die Säure die Verdünnung 0,01 % erreicht hat.

0,025 % hemmt noch stark, wenigstens bei Kresse.

0,1 % ist tödlich für Keimlinge.

Was die Acidität der Ameisensäure anbelangt, so habe ich mich getäuscht, indem ich zuerst annahm, daß sie eine schwache Säure sei.

Folgender Versuch zeigt das Gegenteil.

Ameisensäure (rein, von Kahlbaum) wurde zuerst auf 1 %, dann 0,1 %, dann 0,01 % und 0,005 %, endlich auf 0,002 % mit Aq. dest. verdünnt.

Die Lösungen wurden mit empfindlicher Lackmuslösung geprüft.

Es zeigte sich, daß 0,1 % noch sehr stark sauer reagierte, 0,01 % und 0,005 % ebenfalls noch ganz unzweideutig, ja sogar 0,002 % noch schwach. Hier war offenbar die Grenze.

Das erinnert an Schwefelsäure und Salzsäure, die ebenfalls bei derselben Konzentration die Grenze der Reaktionsfähigkeit haben.

Demnach muß ein Teil der Giftigkeit jedenfalls auf die Acidität der Ameisensäure geschoben werden.

Nachdem oben gezeigt wurde, daß manche Keimlinge erst bei 0,01 % nicht mehr geschädigt werden, während 0,025 % noch hemmen kann, muß für die Keimlinge wohl die Acidität fast allein verantwortlich gemacht werden.

Schlußfolgerungen.

Unter allen Schädlichkeiten, die im vorausgehenden beschrieben wurden, scheinen mir die rätselhaftesten jene zu sein, die bei der Einwirkung von Nährsalzen auf Keimlinge hervortreten, wenn dieselben in etwas zu starken Konzentrationen angewendet werden; ferner die giftige Wirkung von Neutralsalzen der Alkalimetalle.

Die schädliche Konzentration liegt dabei häufig so tief, daß an eine Wasserentziehung durch das Salz nicht gedacht werden kann.

So ist das Chlorkalium, dessen Kaliumgehalt die Pflanzen verwenden können, schon bei 0,25 % etwas schädlich, während Monokaliphosphat selbst bei 1 % noch nicht schadet und 2 % erst nach längerer Zeit nachteilig wirkt.

Sehr bemerkenswert ist auch das Verhalten der verschiedenen Salpeterarten.

Von Kaliumsalpeter wirkt 1 % sehr schädlich, sogar 0,1 % verlangsamt oft noch das Wachstum.

Dagegen hemmt 1 % Calciumsalpeter nur ein wenig, während 0,1 % nicht mehr schädlich wirkt.

Natriumsalpeter ist fast wie Calciumsalpeter, jedoch ein wenig schädlicher; denn 1 % hemmt manchmal beträchtlich, 0,1 % ist immer unschädlich.

Dagegen ist Ammonsalpeter geradezu wie ein Gift von mittlerer Stärke anzusehen. Dasselbe beeinträchtigt noch bei 0,1 % die Keimung sehr stark.

Auch schwefelsaures Ammon benachteiligt das Wachstum der Keimlinge noch bei 0,1 %! Chlorammonium hemmt noch bei 0,5 % beträchtlich, hingegen fast nicht mehr bei 0,1 %.

Bei einer Konzentration von 1 % aber sind die meisten Neutralsalze schädlich, auch wenn sie Nährstoffe sind. Magnesiumnitrat ist bei 1 % sehr schädlich für die Keimung, desgleichen Kaliumsalpeter; Natriumsalpeter beeinträchtigt dieselbe noch bei 1 %.

Kochsalz hemmt die Keimungsvorgänge bei 1 % merklich, bei 2 % sehr beträchtlich.

Hingegen hemmt das Chlorcalcium in der Konzentration von 1 % kaum merklich, bei 2 % verlangsamt es die Keimung noch ein wenig. Ferner wirkt das Monokaliumphosphat bei 1 % gar nicht nachteilig, bei 2 % erst nach einiger Zeit. Woher

dieser Unterschied gegenüber dem Chlorkalium, Kaliumsalpeter usw.?

Recht auffallend ist ferner auch die giftige Wirkung der (neutralen) Caesium- und Lithiumsalze.

Rubidiumsulfat ist erst bei 0,5 $^0/_0$ etwas schädlich, dagegen wirkt Caesiumsulfat schon bei 0,1 $^0/_0$ allmählich nachteilig, Lithiumsulfat stört den Keimungsvorgang manchmal noch bei 0,05 $^0/_0$. Woher wiederum die große Giftigkeit des Lithiumsalzes, und die viel geringere des Rubidiumsalzes?

Wie kann überhaupt ein neutrales Alkalisalz giftig wirken? Die Giftwirkung beruht aller Wahrscheinlichkeit nach meist auf einer chemischen Wirkung (Reaktion) des Giftes mit den Plasmaproteinen. Eine solche Reaktion ist aber zwischen den ganzen Molekülen der Alkalisalze und den Proteinstoffen nicht wohl denkbar.

Wir müssen also an eine Spaltung der Moleküle denken.

Dieselbe kann durch zwei Ursachen bewirkt werden: 1. durch den Lösungsvorgang, 2. durch die Einwirkung des mit Leichtigkeit Spaltungen hervorrufenden Plasmas selbst.

Da bei der Giftwirkung mancher chemischer Substanzen, namentlich der Salze, sowohl mit der Lösungsspaltung als auch mit der physiologischen Spaltung in den Zellen gerechnet werden muß, machte ich einen Versuch in dieser Richtung mit einer Verbindung von Salzsäure mit der völlig indifferenten Base Betain. Das Betainchlorhydrat wirkt physiologisch wie Salzsäure.

Dasselbe wird in wässeriger Lösung nicht vollkommen, sondern nur teilweise in Salzsäure und Betain gespalten. In 1 $^0/_0$iger Lösung sind (nach Altschul) erst 40 $^0/_0$ des Präparates aufgespalten.

Es schien mir von Interesse zu sein, ob der physiologische Versuch nicht so eingerichtet werden könne, daß Betainchlorhydrat seine volle Wirksamkeit entfaltet, also seinem ganzen Salzsäuregehalt entsprechend wirkt.

Ich wählte als Mittel zur Prüfung der Salzsäurewirkung des HCl-Betains eine mit einer Spur Hefe versetzte Gär- und Nährlösung, der das Salz in wechselnden Mengen (0,005 bis 0,1 $^0/_0$) zugesetzt wurde; gleichzeitig wurden Parallelversuche mit freier Salzsäure angestellt. Die Hefe erweist sich durch

verschiedene schon längst bekannte Tatsachen als hydrolytisch sehr wirksam. Schon die gewöhnlichen Ernährungsvorgänge lassen das erkennen.

Bietet man der Hefe (oder auch anderen Pflanzen) Kalium- oder Natriumphosphat in Verbindung mit anderen geeigneten Nährstoffen dar, so wird die Phosphorsäure bis zur letzten nachweisbaren Spur verbraucht. Richtet man die Ernährung der Hefe so ein, daß sie ihren Stickstoff aus Ammoniaksalzen, z. B. schwefelsaurem Ammon entnehmen muß, so weiß sie dieses Salz gewandt zu benutzen. Naegeli hat z. B. folgende Mischungen als mineralische Nährstoffquellen angewandt: a) K_2HPO_4 0,1035 g, $MgSO_4$ 0,016 g, $(NH_4)_2SO_4$ 0,017 g, $CaCl_2$ 0,0055 g (auf 100 ccm Wasser und 1 g weinsaures Ammon). b) KH_2PO_4 0,1 g, $MgSO_4$ 0,02 g, $CaCl_2$ 0,01 g (dazu weinsaures Ammon).

Aus solchen Lösungen wurde von den Hefepilzen (und anderen Pilzen) sowohl der Stickstoff als auch der Phosphor und ebenso der Schwefel mit Leichtigkeit zum Aufbau der Zellen verwendet. Eine Hydrolyse mußte natürlich vorausgehen. Folgende Versuche werden zeigen, daß die Hefe imstande ist, auch das Betainchlorhydrat völlig zu spalten, trotzdem hier eine ernährungsphysiologische Verwendung der Spaltungsprodukte nicht stattfindet.

1. 50 ccm Gär- und Nährlösung wurden mit 0,25 % Salzsäure und einer Spur Hefe versetzt. Nach 24stündigem Aufenthalt im Brutofen war keine Trübung der Lösung zu bemerken; unter dem Mikroskop keine Sproßverbände. Die Hefe hatte sich also nicht vermehrt.

2. 50 ccm Gär- und Nährlösung wurden mit 0,1 % Salzsäure und einer Spur Hefe versetzt. Nach 24stündigem Aufenthalt des Versuches im Brutofen (bei 27°) war keine Trübung der Flüssigkeit zu bemerken; unter dem Mikroskop keine Sproßverbände. Also war die Vermehrung der Hefe unterblieben.

3. 50 ccm Gär- und Nährlösung wurden mit 0,05 % Salzsäure und einer Spur Hefe versetzt. Nach 24 Stunden bei 27° war keine Trübung der Lösung zu bemerken. Die mikroskopische Untersuchung ergab ein negatives Resultat; es waren keine Hefesproßverbände zu finden.

4. 50 ccm Gär- und Nährlösung wurden mit 0,025 % Salzsäure und einer Spur Hefe versetzt. Nach Ablauf von 24 Stunden bei 27° ergab die mikroskopische Untersuchung der Flüssigkeit keine Hefesproßverbände. Eine Vermehrung der Hefe hatte nicht stattgefunden.

5. 50 ccm Gär- und Nährlösung wurden mit 0,01 % Salzsäure und einer Spur Hefe versetzt. Nach 24stündigem Aufenthalt des Versuches

im Brutofen bei 47° ergab die mikrokopische Untersuchung keine Hefesproßverbände; es war trotz der hohen Salzsäureverdünnung keine Vermehrung der Hefe eingetreten.

6. 50 ccm Gär- und Nährlösung wurden mit 0,005 $^0/_0$ Salzsäure und einer Spur Hefe versetzt. Nach 24stündigem Stehen bei 27° ergab die mikroskopische Untersuchung des Versuches einige Hefesproßverbände. Also ist 0,005 $^0/_0$ Salzsäure nicht mehr giftig für Hefe.

7. 50 ccm Gär- und Nährlösung wurden mit 0,25 $^0/_0$ HCl-Betain und einer Spur Hefe versetzt. Nachdem der Versuch 24 Stunden im Brutofen bei 27° gestanden hatte, ergab die mikroskopische Untersuchung, daß keine Hefe gewachsen war. Also wirkt 0,25 $^0/_0$ HCl-Betain giftig und tödlich auf die Hefe ein.

8. 50 ccm Gär- und Nährlösung wurden mit 0,1 $^0/_0$ HCl-Betain und einer Spur Hefe versetzt. Nach 24stündigem Stehen des Versuches bei 27° ergab die mikroskopische Untersuchung, daß keine Hefe gewachsen war. Also wirkt auch 0,1 $^0/_0$ HCl-Betain noch tödlich auf Hefe.

9. 50 ccm Gär- und Nährlösung wurden mit 0,05 $^0/_0$ HCl-Betain und einer Spur Hefe versetzt. Nach 24stündigem Stehen bei 27° ergab die mikroskopische Untersuchung keine Sproßverbände.

10. 50 ccm Gär- und Nährlösung wurden mit 0,025 $^0/_0$ HCl-Betain und einer Spur Hefe versetzt. Nach 24stündigem Stehen des Versuches bei 27° waren Sproßverbände mikroskopisch nachweisbar.

11. 50 ccm Gär- und Nährlösung wurden mit 0,01 $^0/_0$ HCl-Betain und einer Spur Hefe versetzt. Nach 24 Stunden bei 27° zeigten sich unter dem Mikroskop ziemlich viele Sproßverbände.

12. 50 ccm Gär- und Nährlösungen wurden mit 0,005 $^0/_0$ HCl-Betain und einer Spur Hefe versetzt. Nach 24 Stunden bei 27° ergab die mikroskopische Untersuchung zahlreiche Sproßverbände.

Somit ist 0,05 $^0/_0$ HCl-Betain noch giftig für Hefe, 0,025 $^0/_0$ nicht mehr. Bei freier Salzsäure aber erwies sich 0,01 $^0/_0$ noch giftig für Hefe, 0,005 $^0/_0$ aber nicht mehr. Demnach können wir sagen, daß freie Salzsäure etwa 4 bis 5 mal giftiger sei als salzsaures Betainchlorhydrat, was ungefähr dem Salzsäuregehalt des Betainchlorhydrates entspricht. Die Annahme, daß Betainchlorhydrat bei den Versuchen gespalten wird in freie Salzsäure und Betain, ist also richtig; sonst würde ja eine giftige Wirkung wohl überhaupt nicht eintreten; das Salz müßte sich sonst unschädlich verhalten, etwa wie Chlornatrium. Da nun aber eine hydrolytische Spaltung schon durch den Lösungsvorgang allein herbeigeführt wird, wie oben erwähnt wurde, so brauchte eine Mitwirkung des Hefeprotoplasmas bei der hydrolytischen Spaltung des Chlorhydrates nicht angenommen zu werden, wenn nicht die Giftigkeit des Betainsalzes so groß wäre, daß der gesamte Salzsäuregehalt desselben als freie Salzsäure zur Geltung kommt. Daraus müssen wir mit Bestimmtheit schließen, daß das HCl-Betain Molekel für Molekel mit dem Eindringen in die Hefezelle gespalten wird, soweit eine Spaltung nicht schon vorher in der verdünnten wässerigen Auflösung vor sich gegangen ist.

Auch die Giftigkeit der Neutralsalze von Alkalimetallen mag wohl zum Teil auf solche Spaltungsvorgänge zurückzuführen sein.

O. Loew[1]) vermutet, daß durch neutrale Alkalisalze eine Veränderung des Quellungszustandes sensitiver Elementargebilde eintrete, wodurch schädliche Strukturveränderungen herbeigeführt werden.

Das dürfte wohl bei niederen Tieren und Pflanzen zutreffend sein bezüglich des Kochsalzes; denn es ist gelungen, die Kochsalzlösungen unschädlich zu machen durch allmähliche Steigerung der Konzentration. Es gelang Czerny, Süßwasseramöben an 4% Kochsalz zu gewöhnen.

A. Richter fand (Flora 1892), daß Diatomeen eine 7%ige Lösung 1 Jahr, eine 10%ige Lösung 1 Monat ertrugen; Chara konnte 0,5%ige Kochsalzlösung 1 Jahr, eine 1%ige Lösung 4 bis 5 Monate lang aushalten. Zygnema stellinum konnte allmählich an eine 2%ige Lösung angepaßt werden, in einer 3%igen Lösung aber starb sie allmählich ab. Spirogyra zeigte nach 7 Monaten nur wenige lebende Zellen in ca. 5%iger Lösung. Cosmarium dagegen vertrug eine 8%ige Lösung 1 Monat lang. O. Loew selbst beobachtete einmal in einer 5%igen Lösung von Dinatriumphosphat, die Spuren anderer Nährsalze enthielt, eine üppige Entwicklung von Palmellaceen (einzelligen Algen).

Die Empfindlichkeit gegen Kochsalz ist, wie angegeben, bei niederen Pflanzen recht verschieden. Manchmal wurde beobachtet, daß eine Angewöhnung an mehr Kochsalz möglich sei. In diesem Falle ist natürlich die zuerst angegebene Erklärung für die Giftwirkung neutraler Alkalisalze (durch hydrolytische und physiologische Spaltung) nicht anwendbar.

Bei Tieren ist die Giftwirkung neutraler Alkalisalze schon länger bekannt. 1%ige Chlornatriumlösung ruft, einem Frosch injiziert, Krämpfe hervor. Kaliumsalze sind viel schädlicher; ebenso Rubidium und Lithiumsalze. Nach Richet[2]) ist die Reihenfolge so, daß Lithium an Giftigkeit voransteht, dann folgen Kalium und dann Rubidium. Das stimmt nun merkwürdigerweise auch bei Keimlingen der Phanerogamen.

[1]) Giftwirkungen S. 113.

[2]) Compt. rend. 94, 101, 102.

Auf welche Weise die chemischen Stoffe, vermutlich durch chemische Reaktion, auf die Keimlinge wirken, wurde bei den einzelnen Stoffgruppen angegeben, soweit es unsere jetzigen Kenntnisse erlauben.

Dabei ist in der Regel angenommen, daß die Gifte durch direkte chemische Verbindung mit dem Plasmaeiweiß giftig wirken.

Daß eine solche Verbindung faktisch stattfindet, ist in verschiedenen Fällen schon nachgewiesen worden und wird durch den Verfasser in einer weiteren Abhandlung noch gezeigt werden.

Es ist ja auch von vornherein sehr naheliegend, daß die giftige Wirkung in vielen Fällen auf einem solchen chemischen Eingriff beruht, wodurch das Plasma funktionsunfähig wird.

Das Plasma besteht aus Proteinstoffen und Wasser; alles was sonst im Plasma vorkommt, ist akzessorisch. Das Leben ist, wie O. Loew und Verfasser früher dargetan haben, an Proteinstoffe von sehr labiler Beschaffenheit gebunden. Schon relativ geringfügige chemische Eingriffe können den Tod herbeiführen. Stärkere Eingriffe führen ihn immer herbei.

Daß faktisch eine Verbindung zwischen Gift und Proteinstoff entsteht, geht nicht bloß aus der sehr großen Verbindungsfähigkeit der Proteinstoffe, sondern in manchen Fällen auch aus der direkten mikroskopischen Beobachtung und ferner aus den quantitativen Verhältnissen bei der Giftwirkung hervor

Verfasser hat gezeigt, daß bestimmte Mengen von Schwefelsäure, Blausäure, Natriumhydroxyd, Kupfervitriol, Carbolsäure usw. nötig sind, um die Abtötung von 10 g Hefe, von 1 g Spirogyra usw. herbeizuführen.

Die quantitativen Beziehungen weisen auf eine chemische Einwirkung hin.

Denn auch bei chemischen Reaktionen finden quantitative Beziehungen statt.

Eine andere Frage ist, welche Teile der Keimlinge am ehesten geschädigt werden, und welche Funktionen, wenn das Gift in sehr geringen Konzentrationen einwirkt (so daß eine Tötung des ganzen Protoplasmas nicht erfolgt), gestört werden.

Die erste Frage ist im allgemeinen dahin zu beantworten,

daß meist die Wurzeln in erster Linie geschädigt werden. Sie tauchen ja auch direkt in die Giftlösung ein und sind mehr wie der Stengel dazu befähigt, Lösungen aufzusaugen.

Die zweite Frage wurde vom Verfasser nicht untersucht.

Es ergaben sich nur gelegentlich von selbst Beobachtungen über das verringerte Längenwachstum und über gesteigertes Dickenwachstum der Wurzeln, stärkere und dichtere Verzweigung usw.

Dagegen sind an niederen Organismen schon Versuche über das Verhalten der einzelnen Funktionen bei Gifteinwirkungen gemacht worden.

Bei der großen wissenschaftlichen Bedeutung der Sache möchte ich einiges aus den einschlägigen Arbeiten, wiewohl sich diese nicht auf Keimlinge beziehen, hier anführen.

Worin die Schädigung von Bakterien durch Gift besteht, welche Funktionen nach und nach gestört werden, ist aus einer Arbeit von Garbowski[1]) zu ersehen. Die Versuche wurden mit Kupfervitriol, doppeltchromsaurem Kali, Karbolsäure an Bac. luteus und Bac. tumescens angestellt.

Danach tritt eine vollständige Hemmung der Entwicklung der genannten Bakterienspzeies auf gewöhnlichem resp. auf Dextroseagar ein bei einem Gehalte des Kulturmediums

a) zwischen 0,00012 und 0,00018 % $CuSO_4 + 5\,H_2O$
b) " 0,0008 " 0,0012 % $K_2Cr_2O_7$
c) " 0,0014 " 0,0018 % C_6H_5OH.

Durch die Wirkung aller genannten Agenzien in den maximalen von den Organismen vertragenen Dosen wird die Sporenbildung beeinträchtigt, und zwar

a) dieselbe wird verzögert,

b) die Zahl der sporenbildenden Individuen wird bis auf einige wenige (bei Phenol) vermindert,

c) die Größe der Sporen wird herabgesetzt.

In vegetativer Beziehung ist das Anlegen regelmäßiger Teilungswände durch Phenol und Kaliumbichromat beeinträchtigt, was zur Bildung von Fäden führt (auf Phenolkulturen in höherem Maße als auf Kaliumbichromatkulturen), bei Bac. luteus weisen außerdem die letzten bizarre Krümmungen auf

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. 20.

(besonders auf $K_2Cr_2O_7$-Agar); Kupfersulfat begünstigt — im Gegenteil — die Teilbarkeit der Stäbchen und ihren Zerfall in unregelmäßige ovale oder rundliche Schwellformen.

Zum Schluß seien nachfolgende allgemeinen Resultate aufgeführt:

Die Gesamtresultate der auf chemischem resp. auf physikalischem Wege bei Bac. luteus und Bac. tumescens vorgenommenen Abschwächungsversuche sind — kurz zusammengefaßt — folgende:

1. Die Sporenbildung wird verzögert;
2. die Zahl der fruktifizierenden Individuen wird vermindert;
3. die Größe der Sporen wird verkleinert;
4. die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen Erhitzen wird herabgesetzt (ihre Tötungszeit fällt);
5. die Teilung der vegetativen Morphoden wird entweder beeinträchtigt (Wirkung von Phenol und Kaliumbichromat) oder beschleunigt (Wirkung von Kupfersulfat);
6. die Säureproduktion läßt nach;
7. die Kardinalpunkte für die Sauerstoffkonzentration werden einander genähert: das Minimum steigt, das Maximum fällt.

Im allgemeinen hat sich ergeben, daß die verschiedenen benutzten Agenzien alle — im wesentlichen — eine gleiche Reaktion der untersuchten Bakterienspezies hervorrufen. Daraus dürfen wir schließen, daß alle diese Mittel die Organisation der Zelle in gleicher Weise dauernd verändern. Es zeigt sich diese gleichmäßige Beeinflussung anscheinend 1. bei den Stoffwechselvorgängen (Säurebildung), sie tritt aber besonders deutlich hervor 2. beim Verhalten der durch Erhitzen geschwächten Bakterien gegen weitere Wärmewirkung und der durch chemische Gifte geschädigten gegen zu hohe und zu niedrige Sauerstoffpression. Besonders hervorzuheben ist 3. der gleichsinnige Einfluß auf die morphologische Ausbildung, die Entwickelungszeit und die relative Anzahl der entwickelten Sporen.

Vorzüglich aus den beiden letzten Kategorien (2 und 3) von Erscheinungen läßt sich der Schluß ableiten, daß alle durch die angewandten Reagenzien verursachten Veränderungen im Verhalten der Bakterien auf einer Schwächung der Konstitution, oder — wenn wir wollen — auf einer Verschlechterung der Konstruktion des Protoplasten der Zelle be-

ruhen und daß es ziemlich gleichgültig ist, welche schädigenden Einflüsse zu dieser biologischen Verschlechterung führen. (? B.)

Ganz gleichartig scheinen allerdings diese Agenzien den Bau des Protoplasten nicht zu verändern. So z. B. fiel die Sporengröße von Bac. luteus mehr auf phenolhaltigem Agar, als auf bichromathaltigem, während bei Bac. tumescens Kaliumbichromat in dieser Beziehung sich wirksamer erwies als Phenol.

Eine besondere Erwähnung verdient noch die spezifische Wirkung von Kupfersulfat auf die gleichartige Ausbildung der vegetativen Formen beider Spezies.

Ähnliche Untersuchungen, bei Phanerogamen gemacht, wären sicherlich von großem Interesse. Wie wird die Blattbildung, Verzweigung, das Blühen, die Fruchtbildung usw. beeinflußt?

Versuchsmethode: Meine Methode bestand, wie schon in der Einleitung angegeben, darin, daß die Samen direkt in der Giftlösung, die auf Fließpapier gegossen war, keimen gelassen wurden.

Sie unterscheidet sich wesentlich von der Methode anderer Forscher, wie z. B. der von Nobbe[1]), die die Samen zuerst in der Giftlösung aufquellen ließen, dann in reinem Wasser auf Fließpapier zur Keimung brachten.

Diese letzteren Versuche wurden eben vielfach mit Rücksicht auf die Frage der Beizmittel angewendet. Zweck der Beizmittel ist (nach Nobbe), entweder eine widerstehende Samenhülle aufzulockern, oder der geschwächten — nicht völlig erloschenen — Lebensfähigkeit eines Embryo zu Hilfe zu kommen, oder die anhaftenden Pilzkeime zu töten.

Das sind lauter praktische Gesichtspunkte.

Ich wollte die fortdauernde Einwirkuug chemischer Stoffe auf den Keimungsgvorgang prüfen, ein allgemeines Ziel, das ich nur durch die erwähnte Methode erreichen konnte.

Nobbe fand z. B. bei Chlor, daß es bei gewissen Konzentrationen die anhaftenden Pilzsporen völlig tötet, zugleich aber auch den Embryo. Einen fördernden Einfluß der Chlorbeize konnte er nirgends auffinden. Die tödliche Wirkung des Chlors war während der Chlorbeize erfolgt. Abgeschwächt wurde die

---

[1]) Samenkunde (1876) S. 258 ff.

Wirkung des Chlors natürlich dann, wenn die Chlorlösung zur Topferde zugesetzt und die Keimung hierin vorgenommen wurde.

Fleischer[1]) ließ Weizen und Gerste zuerst 24 Stunden in 6 % iger Schwefelsäure (!) liegen, dann säte er sie aus. Ein Drittel der Samen ging auf, die Pflänzchen waren sogar kräftiger wie beim Kontrollversuch. Raps und Lein waren aber völlig abgetötet. Salpetersäure war bei dieser Konzentration tödlich für alle Samen.

Man kann natürlich bei diesen Versuchen nicht wissen, wieviel Schwefelsäure zur Einwirkung gekommen war. Die eine Samenhülle läßt sie leicht durch, die andere schwer. Daß die Embryonen der Samen alle zusammen getötet worden wären, wenn die Schwefelsäure mit der Stärke 6 % in sie eingedrungen wäre, kann keinem Zweifel unterliegen.

Ähnlich verhält sich's wohl auch mit dem Kupfervitriol. Fleischer ließ Cerealien in 12,5 % iger Kupfervitriollösung 48 Stunden lang liegen und fand, daß $^1/_3$ der Samen hierdurch keinen Schaden nimmt. 12 % iger Kupfervitriol ist aber tödlich für jede Zelle! Es fragt sich auch, wieviel Kupfervitriollösung auf eine bestimmte Menge Samen genommen wurde. Leicht kann es sein, daß die absolute Menge des Giftes zu gering war.

Nobbe ließ auf 100 Körner Cerealien 50 ccm einer 1 %, $^1/_2$ % und $^1/_{10}$ % igen Kupfervitriollösung 24 Stunden lang einwirken. Die Keimung verlief dann zwischen feuchtem Fließpapier. Das Resultat war eine Beeinträchtigung der Keimungsenergie. Sehr viele Pflanzen gingen auch zugrunde (mit Ausnahme der $^1/_{10}$ %igen Kupfervitriollösung).

Einquellung (3 Tage lang) in 10, 25, 50 %igem Alkohol tötete die Pflanzen meist ab. Bei 10 % allerdings keimten von Rotklee noch 77 %, Weizen 54 %.

Absoluter Alkohol erwies sich nicht als so schädlich.

Jedenfalls ist hieran die Wasserarmut der Samen schuld. Denn jedes Gift kann nur im Zustande wässeriger Lösung auf das Protoplasma wirken.

Soweit ich die Sache übersehe, kann aus all diesen Ver-

---

[1]) Beiträge zur Lehre vom Keimen der Samen. 1851.

suchen wenig über die eigentliche Giftwirkung auf Keimungsvorgänge entnommen werden[1]).

Die Samenschale ist erstens oft ein sehr bedeutendes Hindernis für das Eindringen der Lösungen, zweitens fängt dieselbe viel von den Gift ab.

Erst wenn die Schale gesprengt ist und die wachsenden Teile des Keimlings aus dem Samen hervortreten, kann ersehen werden, wie sich der Keimling gegen das Gift oder den chemischen Stoff verhält. Meist währt es lange, bis die Differenz gegen den Kontrollversuch hervorkommt.

Beschleunigung des Keimungsvorganges. Diese Frage hat zugleich theoretisches und praktisches Interesse.

Es gibt gewisse Stoffe, die nicht Nährstoffe sind, aber doch auf die Vermehrung der Pflanzensubstanz wirken, indem sie sich als Reizmittel verhalten und damit katalytisch den Gang der Stoffassimilation und des Stoffansatzes beeinflussen.

Man will jetzt diese Wirkungen praktisch zur Vermehrung der Erntesubstanz verwerten.

Fügt man dem Medium, in dem Pflanzen wachsen, neben den nötigen Nährstoffen etwas Mangansalz oder Aluminiumsalz oder beide zugleich zu, so wird (nach J. Stoklasa) das Wachstum der Pflanzen günstig beeinflußt; bei größeren Gaben tritt Giftwirkung ein. Beide zusammen wirken günstiger als eines allein. „Es ist Aussicht vorhanden, daß man die Güte des Hopfens durch Düngung mit sehr geringen Mengen von Mangan- und Aluminiumverbindungen wird verbessern können.“

Auch G. Bertrand fand, daß Mangansalze die Pflanzenerträge erhöhen. Ein Gemisch von Mangansalz und Zinksalz soll noch günstiger wirken. Wird dem zur Düngung bestimmten Calciumnitrat bis 1 % Bleinitrat zugemischt, so ergeben sich ebenfalls höhere Erträge.

Borsäure beeinflußt nach H. Agulhon das Pflanzenwachstum günstig. 0,01 % in Nährlösung oder 0,5 g Bor pro 1 qm müssen angewendet werden. Größere Mengen wirken nachteilig.

Auch bei meiner Versuchsmethode stellten sich öfters Beschleunigungen des Keimungsvorganges heraus. Ja, ich glaube

---

[1]) Sie haben natürlich ihren praktischen Wert. Dafür sind sie ja auch unternommen worden.

sogar, daß solche bei meinem Verfahren sicherer und rascher erkannt werden als bei andern Methoden.

Denn hier findet keine Absorption des Giftstoffes außerhalb der Keimpflanze statt, hier ist kein Wegwaschen des Giftes möglich, kein Wechsel der Konzentrationen durch Begießen, Regen usw. Auch bleibt hier der chemische Stoff (der in größerer absoluter Menge anzuwenden ist) während des gesamten Keimungsvorganges mit dem Keimling in Berührung; man kann ihn beliebig lange (2, 3, 5, 8, 14 Tage usw.) einwirken lassen und die Wirkungen nach Verlauf von 2, 3, 5, 8, 14 Tagen ablesen, ohne hierdurch die Keimlinge zu vernichten oder zu schädigen.

So konnte von mir festgestellt werden, daß Caesiumsulfat bei 0,01 $^0/_0$ die Gerstenkeimung beschleunigt, Lithiumsulfat bei 0,05 $^0/_0$ die Erbsen- und Linsenkeimung beschleunigt und Rubidiumsulfat bei 0,2 $^0/_0$ die Keimung von Weizen, Erbse, Linse, Bohne, Kohl fördert[1]).

Bei Stoffen, die ernährend wirken, wie Methylalkohol, ist natürlich streng zu scheiden zwischen Begünstigung des Wachstums durch reichlichere Zufuhr von Nährstoffen und Beförderung des Keimungsprozesses infolge einer Reizwirkung. Man muß in diesem Falle die Beobachtungszeit ziemlich stark abkürzen und nur die ersten Tage ins Auge fassen, wo im Keimlinge selbst noch Nahrung im Übermaße vorhanden ist.

Eine fördernde Wirkung wurde dann auch noch von mir erkannt bei 0,005 $^0/_0$ Schwefelkohlenstoff an Gerste; ferner bei 0,01 $^0/_0$ K_2CrO_4 an Bohnen, Linsen; 0,0005 $^0/_0$ Sublimat an Kresse; 0,0025 $^0/_0$ Kupfervitriol an Gerste; 0,005 $^0/_0$ Kupfervitriol an Kresse; 0,005 $^0/_0$ Phenylhydrazin an Kresse (schon nach 2 Tagen); 0,0025 $^0/_0$ Anilin an Gerste und Kresse; Hydroxylamin (salzsaures) zu 0,01 $^0/_0$ an Gerste, 0,0025 $^0/_0$ an Gerste (?); 0,001 $^0/_0$ Fluorwasserstoff an Erbsen, Linsen, Gerste usw.

Um die fördernde Konzentration der Gifte zu finden, sind zahlreiche Versuche mit verschiedenen Konzentrationen anzustellen und nicht zu früh abzubrechen, sonst kann man den entscheidenden Punkt übersehen.

---

[1]) Diese Zeitschr. **43**, Heft 5 u. 6.

Tabellarische Übersicht einiger Resultate mit Keimlingen.

	Gerste	Kresse	Weizen	Erbse	Bohne	Linse	Gemüsekohl
Kupfervitriol	Sogar 0,0001 $\%$ hindert noch das Auskeimen.	0,01 $\%$ wirkt noch etwas hemmend, 0,005 $\%$ nicht mehr.		Noch 0,0001 $\%$ hemmt etwas.		0,001 $\%$ hemmt noch die Keimung.	0,001 $\%$ hindert die Auskeimung, ja sogar 0,0001 $\%$ hemmt noch.
Sublimat	0,01 $\%$ schädigt die Wurzeln stark.	0,01 $\%$ schädigt stark, 0,001 $\%$ nicht mehr, 0,0005 $\%$ ruft Beschleunigung hervor.					
Eisenvitriol	0,1 $\%$ hemmt (besonders die Wurzel), 0,02 $\%$ ist ohne Einfluß.	0,1 $\%$ schädigt (tötet schließlich die Wurzel), 0,02 $\%$ ist ohne Einfluß.					
Zinkvitriol	0,5 $\%$ schädlich; 0,01 und 0,02 $\%$ unschädlich, aber auch nicht förderlich.			0,1 und 0,02 $\%$ ist unschädlich.	0,1 $\%$ verzögert die Keimung etwas, 0,02 $\%$ nicht.	0,1 und 0,02 $\%$ ist unschädlich.	
Cadmiumvitriol	0,1 und sogar 0,02 $\%$ schädlich.			0,1 und 0,02 $\%$ wirkt noch merklich schädlich.		0,1 $\%$ wirkt schädlich, 0,02 $\%$ auch noch, aber schwächer.	
Manganvitriol	1 $\%$ ist schädlich, 0,2 $\%$ nicht mehr.			0,1 und 0,5 $\%$ ist schädlich, 0,2 $\%$ zunächst nicht; nach 18 Tagen blieben Keimlinge etwas zurück.	0,2 $\%$ ist etwas schädlich.	In 0,1 $\%$ bleiben Keimlinge nach 18 Tagen etwas zurück; in 0,05 $\%$ nicht.	

Gelbes chromsaures Kali	0,1 % schädlich, 0,02 % nicht mehr schädlich.			0,1 % sehr schädlich.	0,1 % schädlich, 0,02 % nicht, fördert aber auch nicht.	0,1 % schädlich, 0,02 % nur für die Wurzel etwas schädlich.	
Rotes chromsaures Kali				Sogar 0,001 % noch schädlich.			
Lithiumsulfat (siehe Verfasser in dieser Zeitschr. 43)	0,05 % noch schädlich; 0,005 % fördert Keimlinge.			0,05 % wirkt fördernd; beträchtlicher Vorsprung nach 8 Tagen.		0,05 % fördert, beträchtlicher Vorsprung gegen Kontrollversuch nach 8 Tagen.	Mit 0,05 % etwas zurückbleibend.
Caesiumsulfat (Verf. a. a. O.)	Mit 0,01 % nach 8 Tagen sehr deutliche Förderung der Keimlinge.			0,1 bis 0,2 % schädigt allmählich.	0,1 bis 0,2 % gereicht allmählich zum Schaden.	Wie bei Bohne.	Wie bei Bohne.
Rubidiumsulfat (Verf. a. a. O.)			Fördert bei 0,2 % die Keimung.	0,5 % etwas schädlich, 02 % sehr förderlich für Keimlinge.	Wie bei Erbse.	Wie bei Erbse.	Wie bei Erbse.
Kaliumsulfat							
Chlorkalium				1 % schädlich, auch 0,25 % noch etwas schädlich, 0,1 % (und weniger) ist ohne Einfluß.	0,25 % noch schädlich; 0,1 (u. weniger) bleibt ohne Einfluß.		
Monokaliumphosphat				1 % schadet nicht, 2 % erst nach einiger Zeit. Eine Wachstumsbeschl. nirgends zu bemerken.			

	Gerste	Kresse	Weizen	Erbse	Bohne	Linse	Gemüsekohl
Chlornatrium	0,5 % ist ohne Einfluß, 1 % hemmt erheblich.	1 % hemmt die Keimung nur wenig, 2 % beträchtlich; 5 % verhindert sie.					
Chlorammonium (Salmiak)	0,5 % hemmt die Keimung, 0,1 % fast nicht mehr, 0,05 % gar nicht.	0,5 % hemmt, 0,1 % fast nicht mehr, 0,05 % gar nicht.		0,5 % hemmt die Keimung, 0,1 % nicht.	0,5 % hemmt, auch 0,1 % noch etwas, 0,05 % aber nicht mehr	0,5 % hemmt, 0,1 % fast nicht mehr.	
Salpetersaures Ammon	0,1 % beeinträchtigt die Keimung sehr stark.		0,1 % beeinträchtigt die Keimung.	0,1 % beeinträchtigt die Keimung stark.	0,1 % beeinträchtigt die Keimung stark.	0,1 % beeinträchtigt die Keimung stark.	0,1 % beeinträchtigt die Keimung sehr stark.
Schwefelsaures Ammon	0,1 % benachteiligt das Wachstum der der Keimlinge.	0,1 % benachteiligt das Wachstum der Keimlinge.					
Natriumsalpeter	1 % beeinträchtigt die Keimung, 0,1 % nicht mehr.	1 % schädlich, in 0,1 % bleibt die Wurzel zurück.		1 % hemmt, 0,1 % nicht mehr.		1 % hemmt, 0,1 % nicht mehr.	
Kaliumsalpeter	1 % sehr schädlich, 0,1 % hemmt auch noch etwas.			0,1 % hemmt das Wurzelwachstum; 1 % sehr schädlich.		1 % schädlich, 0,1 % hemmt auch noch.	1 % hemmt, 0,1 % verlangsamt das Wurzelwachstum.
Calciumsalpeter	2 % schädlich, 1 % hemmt die Wurzel, 0,1 % unschädlich.			1 % hemmt nur wenig, 0,1 % nicht mehr.	1 % hemmt noch etwas.	1 % hemmt, 0,1 % nicht mehr.	1 % hemmt, 0,1 % nicht mehr.
Magnesiumsalpeter	0,1 % schadet nicht, 1 % sehr schädlich.			0,1 % hemmt nicht, 1 % ist schädlich.		0,1 % hemmt ein wenig, 1 % ist schädlich.	

Chlorcalcium (krystallisiert $CaCl_2 . 10 H_2O$)		2 % hemmt ein wenig, 1 % fast nicht mehr, 5 % verhindert die Keimung.					
Ammoniak		0,01 % verzögert noch die Keimung.					
Hydroxylamin (salzsaures)		0,01 % verzögert noch die Keimung, sogar 0,0025 % hemmt noch etwas.					
Diäthylamin	0,1 % hemmt nicht, fördert vielmehr etwas.	0,1 % hemmt nicht.	0,1 % hemmt nicht.				
Phenylhydrazin		0,05 % hemmt etwas, 0,01 % nicht mehr; 0,005 % fördert.					
Anilin	0,005 % hemmt kaum mehr; 0,0025 % fördert; 0,001 % hat keinen Einfluß.	0,0025 % fördert, auch 0,001 % fördert noch etwas.	0,005 % hemmt kaum mehr, wohl aber 0,01 %.		0,005 % hemmt die Entwicklung.		
Tetraäthylammonhydroxyd	0,05 % fördert ein wenig.	0,05 % fördert ein wenig.	0,5 % schadet nicht.				
Ammoncarbonat	0,5 % schadet.	0,1 % ist unschädlich, 0,5 % schadet.	0,1 % unschädlich, 0,5 % schadet.	0,5 % schädlich, 0,1 % unschädlich.			
Kaliumhydroxyd	0,5 % schädlich, 0,1 % hemmt nur etwas, 0,01 % gleichgültig.	0,5 % schädlich, 0,1 % hemmt etwas, 0,01 % gleichgültig.			Feuerbohne keimt zu 50 %, Keimung schreitet aber langsam fort.		

	Gerste	Kresse	Weizen	Erbse	Bohne	Linse	Gemüsekohl
Natriumhydroxyd	0,1 % verlangsamt die Keimung nicht; 0,05 % ruft eine Beschleunigung hervor.						
Fluornatrium		0,025 % hemmt noch schwach, 0,1 % sehr stark. 0,01 % ist gleichgültig.					
Flußsäure	0,001 % fördert, 0,01 % schadet kaum, 0,1 % tötet.	0,01 % hemmt schwach, 0,1 % tötet, 0,001 % schadet nicht.		0,001 % fördert, 0,01 % schadet kaum, 0,1 % tötet.	0,01 % hemmt etwas, 0,001 % ist gleichgültig.	0,001 % fördert, 0,01 % hemmt noch etwas.	
Kaliumoxalat		0,1 % hemmt die Keimung beträchtlich, 0,01 % aber nicht mehr.					
Oxalsäure		0,1 % hemmt, ja tötet die Keimlinge, 0,01 und 0,001 % sind gleichgültig.					
Chlorsaures Kalium	0,1 % hemmt die Keimung stark.	0,1 % hemmt das Wurzelwachstum stark, sogar 0,01 % hemmt noch ein wenig.					
Jod		0,01 % hemmt die Keimung ein wenig, 0,001 % gar nicht.					
Kaliumpermanganat		0,01 % hemmt noch ein wenig, 0,001 % nicht mehr (Förderung?).					
Schwefelsäure		0,05 % hemmt noch sehr stark; 0,01 % ist gleichgültig.					

Phosphorsäure		0,1 % hemmt merklich, 0,01 % hat keinen Einfluß.					
Borsäure		0,1 % hemmt beträchtlich, 1 % tötet die Keimlinge; 0,01 % ist gleichgültig.					
Schweflige Säure		0,1 % läßt die Keimung nicht über das erste Stadium hinauskommen; 0,01 % ist ohne Einfluß.					
Salpetrige Säure (als Kaliumnitrit)		0,1 % hemmt etwas, 0,01 % nicht mehr.					
Ameisensäure	0,1 % hindert die Keimung, 0,025 % ist gleichgültig.	0,1 % verhindert die Keimung, 0,025 % verzögert sie; 0,01 % ist unschädlich.				0,1 % verhindert die Keimung, 0,025 % nicht mehr.	0,1 % verhindert die Keimung.
Formaldehyd		0,1 % tötet die Keimlinge, 0,01 % verzögert die Keimung sehr stark.					
Methylalkohol				1 % ist förderlich.	Keimlinge werden durch 5 % erst nach 8 Tagen ungünstig beeinflußt.		
Äthylalkohol					2 % ist nachteilig (für Wurzel), 1 % nur noch wenig, 0,5 % ist förderl.		
Propylalkohol					2 % ist schädlich.		
Isobutylalkohol					Schon von 0,5 % an schädlich.		
Amylalkohol					0,5 % ist schädlich.		
Schwefelkohlenstoff	002 % verzögert die Keimung. 0,01 % ist gleichgültig. 0,005 % fördert das Wachstum.	0,02 % verzögert, 0,01 % schädigt nicht, 0,005 % fördert die Keimung etwas.					

Ich zweifle jetzt kaum mehr daran, daß es bei den meisten Giften Verdünnungen gibt, in denen sie fördernd auf das Wachstum wirken.

Ob das aber die von mancher Seite erwartete praktische Bedeutung haben werde, erscheint zweifelhaft. Denn, ein wenig stärker und die Lösung ist schädlich, ein wenig schwächer und die Lösung ist unwirksam.

Theoretisch wird die Sache ja immer ihre Bedeutung behalten, wir haben hier schöne Beispiele für chemische Reizwirkungen.

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß einige weitere Versuche mit Stoffen aus den bis jetzt weniger untersuchten Körperklassen für später geplant sind und daß daran auch eine Anzahl Versuche mit Wasserkulturen, die bis zur Blütenreife vom Keimlingsstadium an gezogen werden, angeschlossen werden sollen. Da solche Experimente naturgemäß sehr lange Zeit zu ihrer Durchführung beanspruchen, seien einstweilen die vorstehenden Experimente über die Einwirkung verschiedener chemischer Stoffe auf die Keimlinge in den ersten Wochen und Tagen ihres Wachstums publiziert.

Über die Ursachen des Wachstums der Pflanzen.

II. Mitteilung.

Von

G. A. Borowikow.

(Aus dem Botanischen Laboratorium der Universität Odessa.)

(Eingegangen am 17. Februar 1913.)

In der ersten Mitteilung[1]) über dieses Thema habe ich über die Wirkung einer Reihe von anorganischen Verbindungen auf die Wachstumsgeschwindigkeit von Helianthus berichtet.

Es ergab sich nun, daß diejenigen Verbindungen, die die Hydratation der Kolloide befördern oder vermindern, auch das Wachstum beschleunigen oder verlangsamen.

Da dabei die Wachstumsgeschwindigkeit von der Größe des osmotischen Druckes der äußeren Lösungen nicht abhängig war und augenscheinlich auch nicht von der Größe des Turgordruckes, so war ich geneigt, mich der Meinung anzuschließen, die in der jüngsten Zeit von den Zoophysiologen vertreten wird, daß nämlich das Wachstum auf der Hydratation der Plasmakolloide basiert.

Bevor ich an das Studium der Turgordruckfunktion in dem pflanzlichen Wachstumsprozeß heranging, hielt ich es für notwendig, meine Beobachtungen über die Wirkung verschiedener Körper auf die Wachstumsgeschwindigkeit zu vervollständigen. Zu diesem Behufe stellte ich zunächst Versuche mit organischen Basen und amphoteren Elektrolyten an. Das Studium dieser Verbindungen war aus einem zweifachem Grunde interessant. Erstens steht uns in der Arbeit von Handowsky[2]) über die Wirkung dieser Körper auf Eiweiß in vitro ein ausgezeichnetes

[1]) Siehe diese Zeitschr. 48, 230, 1913.

[2]) Siehe diese Zeitschr. 25, Heft 6.

Vergleichsmaterial zur Verfügung. Zweitens sollte die Frage geklärt werden, ob die Wirkung organischer Basen auf die Wachstumsgeschwindigkeit derjenigen anorganischer Basen analog ist. Wie ich in meinen Versuchen gezeigt habe, befördern letztere das Wachstum viel weniger als die Säuren. Meine Erklärung für diese Tatsache war, daß sich Carbonate in der Lösung bilden, die den Ionisationsgrad des Eiweißes herabsetzen und dadurch auch seine Hydratation vermindern.

Versuche mit organischen Körpern zeigen, daß die geringere Wachstumsgeschwindigkeit in den Lösungen anorganischer Basen nicht durch Versuchsfehler bedingt war und auch nicht einem zufälligen Umstande zuzuschreiben ist. Bei der Einwirkung organischer Basen auf Helianthus annuus ist es fast unmöglich, auch nur den geringsten Grad der Wachstumszunahme zu konstatieren, der bei den anorganischen Basen beobachtet wurde. Bei Konzentrationen von 0,02 n und höher beginnt ein schnelles Absterben der Sprossen, bei weniger hohen Konzentrationen jedoch tritt ab und zu eine Wachstumsbeschleunigung zutage, aber dieselbe ist äußerst gering und überschreitet kaum die Grenzen der Versuchsfehler.

Tabelle I.

Die Versuchstechnik war dieselbe wie bei den Versuchen mit anorganischen Verbindungen[1]).

Lösung	Zuwachs in mm und %					
	Während der ersten 3 Stunden	Mittelwert während 1 Stunde	Prozente im Vergleich zu Wasser	Während der folgenden 6 Stunden	Mittelwert während 1 Stunde	Prozente im Vergleich zu Wasser
H_2O	58	19	100	70	12	63
Piperidin . 0,01 n	30	10	53	17	3	16
0,005 n	46	15	79	50	8	42
Triäthylam. 0,01 n	36	12	63	2	0	0
0,005 n	48	16	84	31	5	26
Pyridin . . 0,01 n	51	17	89	91	15	79
0,005 n	50	17	89	81	14	74
Harnstoff . 0,01 n	49	16	84	47	8	42
0,005 n	54	18	95	48	8	42
H_2O	60	20	105	69	12	63

[1]) Siehe diese Zeitschr. 48, H. 3.

Da ich befürchtete, daß ein langes Verweilen der Keimlinge in den Lösungen der zu untersuchenden Körper eine Anspeicherung dieser Substanzen in den Pflanzenzellen und ein Überschreiten des nötigen Maximums zur Folge haben könnte, habe ich die Versuchsmethodik insofern geändert, als die Sprossen bloß auf kurze Zeit in die Lösung getaucht wurden, dann brachte ich sie in reines Wasser. Aber auch bei einer solchen Versuchsanordnung war die Wachstumsgeschwindigkeit nur um wenig höher als bei dem üblichen Verfahren.

Tabelle II.

Lösung	Zuwachs in mm und %						
	Während der ersten 3 Stunden	Mittelwert während 1 Stunde	Prozente im Vergleich zu Wasser	Während der folgenden 5 Stunden	Mittelwert während 1 Stunde	Prozente im Vergleich zu Wasser	Verweilen in der Lösung in Minuten
H_2O	76	25	**100**	101	20	**70**	—
Piperidin 0,01 n . .	87	29	**116**	100	20	**70**	10
do. . .	84	28	**112**	76	17	**68**	15
do. . .	78	26	**104**	67	13	**52**	25
do. . .	89	27	**108**	60	12	**48**	35
do. . .	76	25	**100**	82	16	**64**	45
do. . .	79	26	**104**	87	17	**68**	60
H_2O	81	27	**108**	95	19	**76**	—

Somit besitzen die organischen wie auch die anorganischen Basen entweder gar keinen oder nur einen sehr geringen fördernden Einfluß auf den Wachstumsprozeß. Aus den Versuchen mit anorganischen Basen ersieht man, daß die Erdalkalien das Wachstum nicht beschleunigen; ihre Wirkung gleicht mehr derjenigen der organischen Basen. Aber aus den Arbeiten von Pauli und anderen wissen wir, daß die Erdalkalimetalle zu denjenigen Metallen gehören, die viel besser als die Alkalimetalle die Hydratation des Eiweißes durch Bindung von neutralen Eiweißmolekülen vermindern. Diese Hemmung der Eiweißhydratation durch die Alkalimetalle und Erdalkalien tritt besonders scharf beim Säureeiweiß hervor.

Die organischen Basen bewirken durch eine sehr starke Erhöhung der Hydratation des neutralen Eiweißes eine entsprechende Lähmung der Wasseranlagerung des Säureeiweißes

indem neutrale Eiweißverbindungsmoleküle gebildet werden. Die Eiweißkörper des Plasmas können gewiß nicht als neutrale betrachtet werden. Die Gegenwart des sauren Zellsaftes und von CO_2 sind Momente, die den Bedingungen in unseren Versuchen mit Säureeiweiß in vitro gleich zu setzen sind. Ich vermute, daß das Ausbleiben eines vermehrten Wachstums von Helianthus in den Basenlösungen in der Bildung von neutralen Eiweißmolekülen seinen Grund hat. Die Befähigung, mit den Eiweißkörpern des Plasmas neutrale Moleküle zu bilden, ist bei verschiedenen Alkalien nicht in gleichem Maße ausgeprägt, und dies ermöglicht es, deshalb leichter Kationenreihen von Basen als Anionenreihen von Säuren zu erhalten.

Die Versuche mit schwachen Basen und amphoteren Elekrolyten ergaben ebenfalls Resultate, die nicht völlig mit den Angaben von Handowsky mit neutralem Eiweiß übereinstimmen, doch widersprechen sie nicht den bis jetzt von mir erzielten Resultaten.

Harnstoff, Glykokoll und Coffein verursachen eine Hemmung des Wachstums, die bei Coffein am wenigsten zum Vorschein kommt, in einigen Konzentrationen rufen sie jedoch eine Wachstumserhöhung hervor. Diese Verbindungen führen, obgleich sie in höher konzentrierten Lösungen das Wachstum schwächen, nicht so schnell den Tod der Pflanze herbei, wie die oben angeführten viel stärkeren organischen Basen (Tabelle II und III). Die geringe Wachstumsverminderung dieser Körper kann der Bildung von neutralen zyklischen Eiweißampholytverbindungen zugeschrieben werden, deren Existenz durch Handowskys Versuche mit Eiweiß bewiesen worden ist. Meine Studien mit diesen Verbindungen ergaben Resultate, die mit denen von Handowsky harmonieren. Letzterer fand, daß die innere Reibung des Eiweißes bei gleichzeitiger Verminderung der Basendissoziationskonstante und Vergrößerung der Säuredissoziationskonstante stetig abnehme, bei der Aminobenzoesäure mit $K_B = 3{,}6 \cdot 10^{-13}$ und $K_S = 1{,}63 \cdot 10^{-5}$ ein Maximum erreichte. Nur bei der Größe $K_S = 1{,}5 \cdot 10^{-4}$ wird bei Asparaginsäure die innere Reibung, d. h. die Hydratation des Eiweißes, wieder gestärkt. Dagegen konnte ich bei meinen Untersuchungen konstatieren, daß, wenn K_S größer als K_B wird, eine Erhöhung des Wachstums in Erscheinung tritt.

Tabelle III.

Lösung		Zuwachs in mm und %								
		Während der ersten 3 Std.	Mittelwert während 1 Std.	Prozente im Vergleich zu Wasser	Während der folgenden 6 Std.	Mittelwert während 1 Std.	Prozente im Vergleich zu Wasser	Während der folgenden 16 Std.	Mittelwert während 1 Std.	Prozente im Vergleich zu Wasser
H_2O		86	29	100	111	19	66	283	18	63
Harnstoff	0,01 n . . .	78	26	90	122	20	69	222	14	48
Glykokoll	0,01 n . . .	72	24	83	100	17	59	216	13	46
	0,005 n . . .	82	27	93	94	16	55	197	12	42
Coffein	0,01 n . . .	92	31	107	141	24	83	103	9	31
	0,005 n . . .	91	30	104	125	21	73	192	12	42
Pyridin	0,01 n . . .	94	31	107	227	38	131	246	15	52
	0,005 n . . .	87	29	100	177	30	104	274	17	59
Kakodylsäure	0,01 n . . .	123	41	141	55[1])	9	31	Absterben		
	0,005 n . . .	106	35	121	50	8	28	68[1])	4	14[1])
	0,001 n . . .	93	31	107	86	14	48	32[1])	2	7
	0,0005 n . .	86	29	100	79	13	46	33[1])	2	7

Diese merkliche Zunahme von K_S im Verhältnis zu K_B tritt schon bei der Kakodylsäure hervor und diese Säure ruft, obgleich in den ersten 2 bis 3 Stunden eine Vermehrung des Wachstums erfolgt, später eine Abnahme hervor. Bei längerem Verweilen der Sprossen in den Lösungen fällt jedoch die Wachstumsgeschwindigkeit stark ab und die Sprossen beginnen abzusterben. Es ist möglich, daß dies auf die ungleiche Geschwindigkeit, mit der die Ionen eindringen, zurückzuführen ist. Das Wasserstoffion dringt rascher ein und bedingt eine größere Kolloidhydratation, dank der Vermehrung der Anzahl positiver Eiweißionen. Bei weiterem Anwachsen der Säureanionenmenge tritt jedoch ein umgekehrter Prozeß ein, der schließlich eine Koagulation des Eiweißes herbeiführt. Diese erfolgt viel schneller als bei anderen Säuren infolge der Gegenwart von Arsen.

Die quantitative Vermehrung von positiven Eiweißionen geht fast parallel mit der Vergrößerung der Säuredissoziationskonstante einher[2]). In bezug auf die fördernde Einwirkung der Wachstumsbeschleunigung von Helianthus annuus können die

[1]) Absterben.

[2]) Handowsky, l. c.

Säuren in der folgenden Reihe angeordnet werden: Asparaginsäure, Amidobenzoesäure > Essigsäure[1]) > Kakodylsäure.

Tabelle IV.

Lösung		Zuwachs in mm und %					
		Während der ersten $3^1/_2$ Std.	Mittelwert während 1 Std.	Prozente im Vergleich zu Wasser	Während der folgenden 5 Std.	Mittelwert während 1 Std.	Prozente im Vergleich zu Wasser
Asparaginsäure	0,005 n .	156	45	**150**	Absterben		
	0,0015 n .	145	41	**186**	95	19	**63**
	0,001 n .	131	38	**126**	89	18	**60**
	0,0005 n .	110	31	**108**	112	22	**78**
Amidobenzoesäure	0,0015 n .	143	41	**136**	100	20	**66**
	0,001 n .	139	39	**180**	101	20	**66**
	0,0005 n .	124	35	**116**	98	19	**64**
Essigsäure	0,005 n .	145	41	**186**	110	22	**78**
	0,0015 n .	132	38	**126**	108	21	**70**
	0,001 n .	128	37	**120**	92	18	**60**
	0,0005 n .	106	30	**100**	76	15	**50**
H_2O		106	30	**100**	105	21	**70**

Bei weiterer Verminderung von K_S und Vergrößerung von K_B setzt eine Hemmung des Wachstums ein, die wahrscheinlich durch die Bildung von neutralen Eiweißampholytkomplexen oder neutralen Eiweißmolekülen hervorgerufen wird.

In der folgenden Tabelle, in der die Größen K_S und K_B den Untersuchungen von Handowsky entnommen sind, stelle ich die untersuchten Körper im Verhältnis ihres Wirkungsgrades auf das Wachstum zusammen.

Tabelle V.

Substanz	K_B	K_S	Wachstum	
			Hemmung	Beförderung
Piperidin	$1{,}58 \cdot 10^{-3}$	—	++	—
Pyridin	$2{,}28 \cdot 10^{-9}$	—	++	—
Harnstoff	$1{,}50 \cdot 10^{-14}$	—	+	—
Coffein	$1{,}60 \cdot 10^{-14}$	$< 1{,}0 \cdot 10^{-14}$	+	+
Glykokoll	$2{,}70 \cdot 10^{-12}$	$1{,}8 \cdot 10^{-10}$	+	—
Kakodylsäure	$3{,}60 \cdot 10^{-13}$	$6{,}4 \cdot 10^{-7}$	+	++
Aminobenzoesäure . .	$3{,}60 \cdot 10^{-13}$	$1{,}6 \cdot 10^{-5}$	—	++
Essigsäure	—	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	—	++
Asparaginsäure . . .	$1{,}20 \cdot 10^{-12}$	$1{,}5 \cdot 10^{-4}$	—	++

[1]) Ein Unterschied zwischen Asparaginsäure, Amidobenzoesäure und Essigsäure ist noch nicht festzustellen.

An erster Stelle steht das Piperidin, das das Wachstum am stärksten hemmt, und an letzter die Asparaginsäure, die es am meisten beschleunigt. Die Pflanze scheint also das Bestreben zu haben, nur die Säure auszunutzen.

Der Basenzusatz zu dem Säureeiweiß (HCl-Eiweiß oder $C_2H_4O_2$-Eiweiß) erniedrigt, wie bekannt[1]), den Hydratationsgrad des Eiweißes. Dasselbe trifft auch für die Wachstumsgeschwindigkeit zu: sie nimmt in der Kombination Säure + Base ab, was genügend klar aus folgenden Tabellen (Tab. VI) zu ersehen ist.

Die Versuche mit den Salzen derselben organischen Basen ergaben Resultate, die nicht völlig den Versuchsergebnissen von Handowsky[2]) analog sind. Bei dem letzteren Forscher zerfallen die organischen Basen in zwei Gruppen. Zu der ersten Gruppe gehören die Salze der starken organischen Basen und zur zweiten Gruppe die Salze der schwachen Basen. Jene erhöhen, diese erniedrigen den Hydratationsgrad des neutralen Eiweißes. Fügt man sie jedoch zu einem sauren oder alkalischen Eiweiß hinzu, so bewirken die einen wie auch die anderen eine Herabsetzung des Hydratationsgrades des Eiweißes, d. h. sie wirken analog den anorganischen Salzen.

Tabelle VI.

Lösung	Zuwachs in mm und %					
	Während der ersten 4 Std.	Mittelwert während 1 Std.	Prozente im Vergleich zu Wasser	Während der folgenden 5 Std.	Mittelwert während 1 Std.	Prozente im Vergleich zu Wasser
H_2O	84	21	**100**	75	15	**71**
0,0001 n-HCl	105	26	**124**	81	16	**76**
do. + 0,01 n-Coffein	99	25	**120**	83	17	**81**
do. + 0,005 n-Coffein	101	25	**120**	102	20	**95**
do. + 0,01 n-Harnstoff	79	20	**95**	66	13	**62**
do. + 0,005 n-Harnstoff	79	20	**95**	51	10	**48**
do. + 0,01 n-Glykokoll	74	18	**86**	68	14	**67**
do. + 0,005 n-Gykokoll	77	19	**91**	56	11	**52**
do. + 0,01 n-Piperidin	56	14	**67**	24	5	**24**
do. + 0,005 n-Piperidin	71	18	**86**	44	9	**43**

[1]) Handowsky, l. c. S. 537.

[2]) Handowsky, l. c.

Bei meinen Versuchen bedingen die Salze sowohl der starken[1]) als auch der schwachen Basen eine Vermehrung des Wachstums, und der Unterschied zwischen ihnen ist nur ein rein quantitativer. In den Lösungen von Salzen schwacher Basen wachsen die Keimlinge ebenso energisch, wie auch in den Lösungen der zugehörigen Säuren, aber bei höheren Konzentrationen sterben die Sprossen rasch ab. In hochkonzentrierten Lösungen von starken Basen wird jedoch das Wachstum gehemmt, in niedrigen beschleunigt. In den Salzen organischer Basen haben wir somit eine ganz neue Reihe von Wachstumsstimulantien, während zu den anorganischen Salzen auf Grund der Untersuchungen von Nabokich[2]) und mir die Salze des Ammoniums zu stellen sind.

Tabelle VII.

Lösung	Zuwachs in mm und %					
	Während der ersten 3 Std.	Mittelwert während 1 Std.	Prozente im Vergleich zu Wasser	Während der folgenden 5 Std.	Miteltwert während 1 Std.	Prozente im Vergleich zu Wasser
H_2O	88	29	**100**	134	27	**93**
0,001 n-Harnstoff	80	27	**93**	125	25	**86**
0,005 n- „	84	28	**97**	137	27	**93**
0,0001 n-Harnstoffnitrat	121	40	**140**	157	31	**107**
0,001 n- „	150	50	**173**	155	31	**107**
0,005 n- „	134	45	**155**	Absterben		
0,01 n- „	Absterben					

Ich nehme an, diesen erörterten Tatsachen liegt eine wohlfundierte Ursache zugrunde. Salze, die leicht hydrolysierbar sind, werden das Wachstum infolge der Anwesenheit von Säuren und dadurch der H-Ionen in den Lösungen günstig beeinflussen. Je schwächer eine Base ist, desto leichter erfolgt die Hydrolyse und desto stärker wird die Wirkung des Salzes sein. In Anbetracht aber dessen, daß schwache Basen sogar in

[1]) Die Versuche mit den Salzen der starken Basen sind noch nicht abgeschlossen.

[2]) Nabokich, Über die Wachstumsreize. Beihefte z. Bot. Centralbl. 26, 1910.

Tabelle VIII.

Lösung	Zuwachs in mm und %					
	Während der ersten 3 Std.	Mittelwert während 1 Std.	Prozente im Vergleich zu Wasser	Während der folgenden 5 Std.	Mittelwert während 1 Std.	Prozente im Vergleich zu Wasser
H_2O	68	23	**100**	97	19	**83**
0,01 n-Coffeinsulfat	71	24	**104**	Absterben		—
0,0015 n-Coffeinsulfat	113	38	**165**	„		—
0,005 n-Phenylendiaminchlorid	126	42	**183**	„		—
0,0025 n-Phenylendiaminchlorid	138	46	**200**	„		—
0,0005 n-$H_4C_2O_2$	83	28	**122**	100	20	**87**
do. + 0,01 n-Coffeinsulfat	60	20	**87**	Absterben		—
do. + 0,0015 n-Coffeinsulfalt	132	44	**191**	„		—
do. + 0,005 n-Phenylendiaminchlorid	156	50	**217**	„		—
do. + 0,0025 n-Phenylendiaminchlorid	178	59	**257**	„		—

starken Lösungen keine beträchtliche Hemmung des Wachstums herbeiführen, so dürfen wir uns nicht darüber wundern, daß das Verhalten der Sprossen in diesen Lösungen das gleiche wie in den Säurelösungen ist. In den Salzlösungen stärkerer organischer Basen ist eine solche Beschleunigung des Wachstums nicht zu beobachten, erstens aus dem Grunde, weil die Hydrolyse hier nicht so stark ist und zweitens, weil diese Basen mehr das Wachstum zu hemmen vermögen als schwache Basen, wie Coffein, Harnstoff und Glykokoll. Aus demselben Grunde rufen in den Lösungen von Säure + Salz die Salze schwacher organischer Basen keine Hemmung des Säureeffekts herbei, sondern beschleunigen ihn. Salze jedoch von starken Basen in größten Konzentrationen wirken lähmend auf das Wachstum, d. h. sie paralysieren die Wirkung der Säure und können andererseits bei niedrigen Konzentrationen, wenigstens einige von ihnen, die Säurewirkung verstärken. Worin liegen die Ursachen eines so ungleichen Verhaltens der Sprossen zu den verschiedenen untersuchten Körpern begründet? Eine von ihnen — die Größe des osmotischen Druckes der äußeren Lösung — muß man jedenfalls ausschließen. Gemäß der vorläufig allgemein herrschenden Meinung ist die Beschleunigung oder die Hemmung des Wachstums der ungleichen Größe des

Turgordruckes und der Membranausdehnung zuzuschreiben. Ich verfüge noch nicht über ein genügend vollständiges Material über diese Frage, aber die in der Literatur vorhandenen Angaben, wie auch meine eigenen Versuche zeigen, daß die Wachstumsgeschwindigkeit bei weitem nicht in demselben Maße wächst wie die Größe des Turgordruckes. Die Ursache der Wachstumsbeschleunigung oder -verlangsamung bin ich geneigt, in dem ungleichen Hydratationsgrade der Plasmakolloide anzusehen.

Die Bedingungen, die die Ionisation des Eiweißes begünstigen, rufen auch eine größere Hydratation der Plasmakolloide hervor. In diesem fördernden Sinne wirken die Säuren für die Pflanzen, die sich gerade in der Wachstumszone befinden[1]).

Die Gegenwart von Metallen erniedrigt infolge der Bildung von neutralen Eiweißteilen die Eiweißionisation. Diese Funktion kommt auch den organischen Basen zu. Eine führende Rolle muß in diesem Prozesse im Leben der Pflanze das Ca spielen, nicht nur weil es Bestandteil von jedem Boden ist und leicht von der Pflanze assimiliert wird, sondern auch deshalb, weil seine Wirkung in dem Prozesse der Bildung von neutralen Eiweißteilen und seine Wachstumshemmung erheblich die Wirkung der Metalle der Alkaligruppe übertrifft, wie das aus den früher von mir angeführten Versuchen hervorgeht. Vielleicht hängt die Wirkung der meisten Metalle, die Bestandteile der Nährlösungen bilden, von ihrer Neutralisation des Eiweißes und von ihrer Hemmung des schädlichen Einflusses der im Überschuß sich bildenden Säuren ab.

---

[1]) Untersuchungen über die Verbreitung des Säuregrades nach Wachstumszonen sollen in nächster Zeit in Angriff genommen werden.

Über den Mechanismus der primären Toxizität der Antisera und die Eigenschaften ihrer Antigene[1]).

Von

R. Doerr und R. Pick.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien.)

(Eingegangen am 24. Februar 1913.)

Durch die Immunisierung mit Eiweißantigenen kann das Serum von Kaninchen unter gewissen, vorläufig nicht genau präzisierbaren Bedingungen eine hochgradige Pathogenität für Meerschweinchen gewinnen; die intravenöse Injektion relativ kleiner Dosen bewirkt einen akuten Chok und führt innerhalb weniger Minuten zum Exitus, die subcutane Einspritzung erzeugt persistierende, in Nekrosen übergehende Infiltrate (Hartoch, Friedberger, Doerr und Moldovan). Die Symptomatologie des als „primäre Toxizität der Antisera“ bezeichneten Phänomens und die Erwägung, daß seine letzte Ursache augenscheinlich im Antigencharakter der artfremden Eiweißkörper zu suchen war, bewogen die Mehrzahl der Autoren zu der Annahme, daß der Mechanismus der am Meerschweinchen beobachteten Effekte mit dem der anaphylaktischen Vorgänge identisch oder doch nahe verwandt sein müsse. Ein strikter Beweis für diese Auffassung konnte nicht geführt werden und läßt sich auch heute noch nicht erbringen, weil wir keinen tieferen Einblick in das Wesen der Anaphylaxie selbst besitzen. Aber gerade weil sich unsere positiven, als gesichert anzusehenden Kenntnisse von der Anaphylaxie darauf reduzieren, daß sie durch Eiweißantigene hervorgerufen wird und sich am Meerschweinchen in einer Form äußert, die sich wenigstens in prinzipieller Hinsicht nicht von der Giftwirkung toxischer Anti-

[1]) Ausgeführt mit den Mitteln der Trenkle-Stiftung für das Jahr 1911.

sera unterscheidet, so könnten die Argumente, die anfänglich zu der Gleichstellung der beiden Erscheinungen Veranlassung gaben, bis auf weiteres als ausreichend betrachtet werden, wenn nicht ein Moment hindernd im Wege stünde. In allen anaphylaktischen Experimenten liegt die Sache so, daß der Körper des Versuchstieres den aktiv erzeugten oder passiv zugeführten Antikörper enthält und daß die Noxe erst dann entsteht, wenn man das korrespondierende Eiweißantigen parenteral einverleibt; es handelt sich also, um einen viel kritisierten, nach unserer Ansicht aber zutreffenden Ausdruck von Friedberger zu gebrauchen, stets um Eiweißantigen-Antikörperreaktionen in vivo. Bei der Wirkung der primär toxischen Antisera scheint dagegen bloß der Antikörper zu intervenieren, und es ist zunächst unklar, mit welchem Antigen er abreagieren könnte, um eine der anaphylaktischen wesensgleiche Schädigung des Organismus zu involvieren.

Will man daher die aprioristisch aufgestellte Hypothese von der Identität der Anaphylaxie und der primären Toxizität der Antisera nicht schlankweg aufgeben, so ist es wohl am natürlichsten, das fragliche Antigen in das reagierende Tier, also in das Meerschweinchen, zu verlegen. Das ist in bestimmten Fällen in der Tat ohne weiteres möglich. Immunisiert man Kaninchen mit Meerschweinchenerythrocyten (Belfanti und Carbone) oder mit Meerschweinchenserum (Doerr und Moldovan, Uhlenhuth und Haendel, Turro und Gonzalez), so erscheint es vom Standpunkte der Anaphylaxielehre nicht weiter merkwürdig, wenn die erzielten Antisera Meerschweinchen unter den Zeichen des anaphylaktischen Choks akut töten; sie müssen ja im Meerschweinchenorganismus notwendigerweise auf ein passendes Antigen stoßen. Die klassische anaphylaktische Versuchsanordnung ist einfach umgekehrt worden, eine Tatsache, der Turro und Gonzalez in der Bezeichnung „Anaphylaxie inverse“ Rechnung tragen. Da ferner das Eiweiß der Organzellen zweifellos antigene, speziell auch anaphylaktogene Fähigkeiten besitzt, so werden sich analoge Verhältnisse ergeben, wenn man Kaninchen mit zerriebenen Geweben des Meerschweinchens (Niere, Leber, Gehirn, Hoden) behandelt und die gewonnenen Immunsera Meerschweinchen intravenös injiziert. In diese Kategorie darf man die älteren

(**Delezenne** und **Metschnikoff**, **Delezenne**, **Lindemann** und **Nefedieff**, **Delezenne** und **Deutsch**), sowie die meisten neueren Angaben (**Joannovics**, **Rossi**, **Gräfenberg** und **Thies**, **Forssman** und **Hintze**) über sogenannte organotoxische Sera unbedenklich einreihen, solange man sich lediglich von dem Postulat des Nachweises der Antigen-Antikörperreaktion in vivo leiten läßt.

Größere Schwierigkeiten bereiteten der Erklärung die akuten Giftwirkungen solcher Immunsera, deren Antigene im Körper der vergiftbaren Tiere nicht vorzukommen schienen, soweit man wenigstens bis vor kurzem über diesen Punkt orientiert war. Kaninchen, die man mit Hammelserum oder Hammelerythrocyten immunisiert, liefern Sera, die beim Meerschweinchen intravenös injiziert gleichfalls anaphylaxieartige Symptome auslösen, obwohl sie in vitro weder Meerschweinchenserum ausflocken, noch Meerschweinchenblutkörperchen hämolysieren, wie das bei dem Fehlen jeder zoologischen Verwandtschaft zwischen Hammel und Meerschweinchen von vornherein erwartet werden kann (**Hartoch**, **Friedberger**, **Doerr** und **Moldovan**). Diesen Teil des Problems untersuchte **Friedberger** in Gemeinschaft mit seinen Mitarbeitern **Castelli**, **Mita**, **Nathan**, **Ito**, **Girgolaff** und **Joachimoglu** in ausgedehnten Versuchsreihen, die sich indes auf die Fragestellung beschränkten, ob zwischen der Toxizität der erwähnten Antisera und ihren Antikörperfunktionen in vitro (Gehalt an Präcipitin und hämolytischem Amboceptor) ein Parallelismus nachzuweisen war oder nicht. Es zeigte sich, daß die Toxizität des Serums von Kaninchen, denen man wiederholt Hammelantigene injiziert hatte, zwar nach jeder Antigenzufuhr gleichzeitig mit dem Präcipitin und Amboceptor sank (negative Phase) und dann auch wieder gleichsinnig anstieg; der schließliche Schwund der Toxizität erfolgte jedoch bereits zu einer Zeit, in der die Präcipitine und Amboceptoren eine weitere erhebliche Zunahme erfuhren. Aus dieser Divergenz zog **Friedberger** den Schluß, daß die Toxizität der Antisera nicht bloß von ihrem Gehalt an Antikörpern abgeleitet werden dürfe, ein Schluß, der schon deshalb ungerechtfertigt war, weil ein vom Präcipitin und Amboceptor verschiedener Antikörper die Giftigkeit bedingen kann (v. **Dungern** und **Hirschfeld**); auch bei bestehender Identität wäre es

übrigens denkbar, daß so differente Methoden des Nachweises wie das Tierexperiment, die Kolloidflockung und die osmotische Zellschädigung im hämolytischen Versuche weit abweichende quantitative Ergebnisse liefern (Doerr). Friedberger machte jedoch die Unabhängigkeit der Giftwirkung vom Antikörpergehalt zum Ausgangspunkt einer Theorie, in der er der eingangs aufgestellten Forderung nach einem für eine anaphylaktische Reaktion erforderlichen Antigen gerecht zu werden versuchte. Er nahm an, daß die toxischen Antisera neben Antikörpern noch Antigenreste enthalten, die von der letzten immunisierenden Injektion herstammen und der Menge nach wechseln, je nach der zwischen Antigenzufuhr und Serumgewinnung verstrichenen Zeit; im Immuntier (Kaninchen) sollen Antikörper und Antigenrest koexistieren, ohne miteinander zu reagieren, und erst im Körper des mit dem Antiserum injizierten Meerschweinchens fände die Vereinigung beider und unter Intervention von Komplement die Bildung der anaphylaktischen Noxe statt. Da sich aber solche Antigenreste naturgemäß nicht nur bei der Immunisierung mit Hammelantigenen, sondern mit jedem beliebigen Eiweißantigen bilden müßten, so folgerte Friedberger konsequent weiter, daß alle vom Kaninchen stammenden Antieiweißsera giftig sein können, sofern man sie nur im richtigen Momente entnimmt, d. h. zu einer Zeit, zu der sie genügende Mengen von nicht zersetztem oder abgebautem Antigen enthalten, und brachte Beispiele von Antipferde-, Antirinder-, Antityphus-, Antibierhefe-Sera, die sich sämtlich toxischer erwiesen hatten als Normalkaninchenserum.

Die innere Unwahrscheinlichkeit und die lückenhafte experimentelle Begründung dieser Auffassung wurde alsbald von verschiedenen Seiten betont (v. Dungern und Hirschfeld, Friedemann, Doerr). Doerr und Weinfurter konnten schließlich an der Hand eingehender Versuche zeigen, daß die Theorie der Antigenreste mit den Tatsachen unvereinbar ist, da die Toxizität gerade in der Periode, in der Antikörper und Antigen im Immunserum gleichzeitig nachweisbar sind, fehlt und sich erst nach dem völligen Verschwinden des letzteren aus der Blutbahn einstellt, um dann lange Zeit unverändert anzuhalten. Auch waren die für das Meerschweinchen letalen Dosen mancher Antieiweißsera (Hammelhämolysine) so gering

(0,03 ccm pro 100 g Körpergewicht), daß sie rechnungsgemäß nicht genug Antigen enthalten konnten, als für eine derart intensive anaphylaktische Reaktion unbedingt nötig ist. Abgesehen von diesen negativen Resultaten gelang es Doerr und Weinfurter, zwei positive Erkenntnisse zu erzielen, die für die ganze Betrachtung eine besondere Bedeutung besitzen. Zunächst stellte es sich heraus, daß das wirksame Prinzip der toxischen Antieiweißsera der Kaninchen bereits im Blute dieser Tiere präformiert ist, aus einem nicht sicher zu eruierenden Grunde jedoch für den Kaninchenorganismus nicht schädlich ist. Zweitens lehrten zahlreiche Experimente, daß die Hammelantigene eine deutliche Sonderstellung einnehmen insofern, als schon die einmalige Einspritzung kleiner Mengen von Hammelserum oder Hammelerythrocyten dem Serum von Kaninchen die Meerschweinchenpathogenität verleihen; bei wiederholter Zufuhr ließen sich ziemlich regelmäßig ganz beträchtliche Giftigkeitsgrade erreichen, wie aus dem oben zitirten Beispiel erhellt. Andere Eiweißantigene wirkten inkonstant, erst in großen Mengen und bei lange wiederholter Injektion; die beobachteten Grade der Toxizität waren relativ gering. Übrigens fanden Doerr und Weinfurter außer den Hammelantisera nur noch Pferdeantisera in nennenswertem Grade giftig; die Versuche mit anderen Eiweißantigenen schlugen ganz fehl, trotzdem eine große Zahl artfremder Sera, Erythrocyten und Mikroorganismen zur Erprobung kamen. Geringe Steigerungen der Giftigkeit von Kaninchenserum können zudem auch durch die mit solchen Experimenten verbundenen kopiösen Aderlässe und die konsekutive Anämie der Immuntiere bedingt sein (Doerr und Weinfurter).

Die Sonderstellung der Hammelantigene bot nun ein spezielles Interesse im Hinblick auf eine 1911 erschienene Arbeit von Forssman, aus der hervorgeht, daß man hochwertige spezifische Hämolysine für Hammelerythrocyten nicht nur in der Weise erhalten kann, daß man Kaninchen mit dieser Blutkörperchenart immunisiert, sondern auch durch wiederholte Injektionen von Emulsionen aus Meerschweinchenorganen (Leber, Niere, Nebenniere, Hoden, Gehirn). Nach späteren ergänzenden, von Forssman und Widén durchgeführten Untersuchungen führt auch die Behandlung mit Nierensubstanz vom Pferde

oder von der Katze zur Bildung von Hammelhämolysinen im Kaninchenorganismus; dagegen erwiesen sich Ochsen- und Rattennieren, Meerschweinchenerythrocyten, Typhusbacillen und Brauereihefe als unwirksam. Nachprüfungen von Dschewad Orudschiew ergaben in allen Punkten eine völlige Bestätigung dieser Angaben und brachten außerdem eine Erweiterung in dem Sinne, daß in gewissen Fällen auch die Injektion von Meerschweinchenserum eine Steigerung der hämolytischen Hammelblutamboceptoren im Kaninchenserum veranlaßt. Die hämolytischen Amboceptoren der Meerschweinchenorganantisera wurden in vitro durch Hammelerythrocyten sowohl als auch durch Organzellen vom Meerschweinchen, vom Pferde oder von der Katze (nicht aber durch Nierenzellen vom Rind oder von der Ratte) gebunden [resp. adsorbiert; die Amboceptoren der gewöhnlichen Hammelblutimmunsera hingegen lassen sich nur durch Hammelerythrocyten zur Gänze binden, während Meerschweinchenorgane, Nierenzellen vom Pferde oder von der Katze nach Forssman keine, nach Dschewad Orudschiew nur eine partielle, bald schwächere, bald stärkere Reduktion des Antikörpers bewirken. Jedenfalls entsprechen also den verschiedenen als Antigene der Hammelhämolysine verwendeten Substraten Antisera von wenigstens teilweise differierenden Eigenschaften.

An gewisse Details in den Bindungsverhältnissen knüpfte sich eine Debatte zwischen Forssman und Dschewad Orudschiew über die Ehrlichsche Seitenkettentheorie, auf die wir hier, da sie für unser Thema irrelevant ist, nicht näher eingehen. Wir wollen uns vielmehr einer Frage zuwenden, die sich im Hinblick auf die primäre Toxizität der Antisera, speziell der Hammelantisera, von selbst aufrollt, und von deren Beantwortung wichtige Aufschlüsse erwartet werden dürfen, der Frage nämlich, ob die Organantisera, die hämolytische Amboceptoren für Hammelerythrocyten enthalten, für Meerschweinchen ebenso pathogen sind wie die gewöhnlichen Hammelblutimmunsera.

Wie aus einer Arbeit von Doerr und Weinfurter[1]) und aus dem Artikel von Doerr „Allergie und Anaphylaxie“[2]) zu

[1]) Centralbl. f. Bakt. 67, 1912.

[2]) Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorg., 2. Aufl., 2, 1097.

entnehmen ist, haben wir uns schon seit geraumer Zeit mit einschlägigen Versuchen befaßt, die allerdings erst jetzt zu einem wenigstens vorläufigen Abschluß gediehen sind. Inzwischen erschien eine Publikation von Forssman und Hintze, die den gleichen, sehr naheliegenden Ideengang verfolgt. Forssman und Hintze immunisierten Kaninchen mit Meerschweinchennierenemulsion; die gewonnenen Antisera töteten intravenös Meerschweinchen von 250 g in Mengen von 0,7 bis 1,5 ccm und enthielten bedeutende Quantitäten hämolytischen Hammelamboceptor (einfach lösende Dosis 0,0008 bis 0,002 ccm); zwischen der Toxizität und dem Amboceptorgehalt bestand kein quantitativer Parallelismus. Prüfte man das toxische Prinzip der Sera auf seine Adsorbierbarkeit resp. Bindungsfähigkeit durch verschiedene Substrate, so zeigt es ein absolut gleiches Verhalten wie der Träger der Giftwirkung in einem gewöhnlichen Hammelblutimmunserum; beide Arten toxischer Sera wurden durch Hammelerythrocyten, durch Meerschweinchen- und Katzenniere entgiftet, nicht aber durch Schweine- oder Ochsenblutkörperchen, oder durch Schweine- oder Ochsenniere. Die Konsequenz dieser Tatsachen ist ohne weiteres klar: die Hammelerythrocyten scheinen neben anderen Antigenen auch eines zu enthalten, das in den Meerschweinchenorganen vorkommt; beide Substrate müssen daher im Kaninchen die Bildung eines gegen das Organeiweiß des Meerschweinchens gerichteten Antikörpers anregen, und daß dieser auf das Meerschweinchen toxisch wirkt, ist im Sinne der Lehre von der Anaphylaxie als einer Eiweißantigen-Antikörperreaktion in vivo gut verständlich. Damit wäre also die primäre Toxizität der Hammelhämolysine als ein allerdings merkwürdiger Fall von umgekehrter Anaphylaxie aufgeklärt und ganz gleichwertig den bereits zitierten akuten Schädigungen durch organo- oder cytotoxische Sera, wie dieselben seit Metschnikoffs Forschungen über die „Leukotoxine“ bekannt sind. Dieselbe Auffassung wie Forssman vertritt auch Dschewad Orudschiew, der allerdings nicht über Tierversuche mit primär toxischen Antisera berichtet, sondern sich ausschließlich auf die durch Bindungsversuche in vitro erwiesene Receptorengemeinschaft zwischen Hammelblut und Meerschweinchenorganen stützt. Nach Dschewad Orudschiew bewirkt — wie bereits er-

wähnt — auch die Immunisierung mit Meerschweinchenserum eine Steigerung der hämolytischen Hammelblutamboceptoren im Kaninchenserum, während dies bei Vorbehandlung mit Meerschweinchenblut nur in einem Falle zu konstatieren war; er glaubt daher, daß das Meerschweinchenserum oft, die Blutkörperchen nie oder nur ausnahmsweise jene Antigene enthalten, die den Meerschweinchenorganen und Hammelerythrocyten gemeinsam sind. Demnach wäre die Giftwirkung der Meerschweinchenpräcipitine (richtiger der gegen das Serumeiweiß von Meerschweinchen gerichteten Antisera) nicht, wie Doerr und Moldovan wollen, auf eine Eiweißfällung im Blute und eine Störung des Gleichgewichtes der Blutkolloide, sondern auf die Verbindung eines besonderen Antikörpers mit den Organzellen des Meerschweinchens zu beziehen. Wir behalten uns vor, auf diese spezielle Frage später gelegentlich zurückzukommen.

Damit ist die Toxizität der Hammelhämolysine unserem Verständnis, soweit als das zurzeit möglich ist, erschlossen. Von den giftigen Antipferdesera und anderen Eiweißantisera läßt sich das nicht behaupten. Auch bleibt es unklar, warum die im Kaninchen präformierten Gifte für das Kaninchen unschädlich sind, und gerade dieses Moment könnte einen Prüfstein für die Richtigkeit der von Forssman und Orudschiew aufgestellten Hypothese bilden, wenn es gelänge, die Abwesenheit eines passenden Antigens im Kaninchenorganismus überzeugend darzutun. Die von Doerr und Weinfurter, sowie von Orudschiew gegebene Erklärung, daß die Immunkaninchen infolge der andauernden Giftwirkung in einen Zustand von Antianaphylaxie versetzt werden und daß Kaninchen im allgemeinen gegen anaphylaktische Noxen viel weniger empfänglich sind als Meerschweinchen (Friedberger), kann kaum als befriedigend angesehen werden. Auch erscheint es wünschenswert, die Eigenschaften der Organantigene, die der Produktion von Hammelblutamboceptoren und der toxischen Antikörper zugrunde liegen, einer genaueren Analyse zu unterwerfen, die bei dem von den Serum- und Erythrocyten-Antigenen so weit abweichendem Verhalten (Fehlen der Artspezifität) eine reiche Ausbeute verspricht.

Endlich fällt es auf, daß sowohl Forssman als Orudschiew zur Immunisierung ihrer Kaninchen nur Meer-

schweinchenorgane verwendet haben (oder doch Meerschweinchenserum); die Toxizität der auf diesem Wege dargestellten Antisera für Meerschweinchen kann nicht als neu oder überraschend bezeichnet werden. Forssman schließt zwar eine reine Meerschweinchenanaphylaxie aus, da die giftigen Antisera durch Adsorption mit Meerschweinchenerythrocyten nicht entgiftet würden, und meint damit offenbar, daß die Giftwirkung nicht auf einer Reaktion zwischen einem Meerschweinchenhämolysin und den Blutkörperchen dieses Tieres, sondern auf der Verbindung eines anderen Antikörpers mit den Organzellen beruht. Das ist wohl richtig; da aber die hämolytischen Amboceptoren der Meerschweinchenorganantisera ebenso wie das toxische Prinzip auch durch Pferde- und Katzenniere gebunden werden, so wäre es bedeutungsvoller, z. B. ein Pferdenieren-Antiserum vom Kaninchen zu gewinnen und zum Ausgangspunkt weiterer Untersuchungen zu wählen. Diese Versuchsanordnung haben wir, wie die folgenden Ausführungen zeigen, tatsächlich benutzt.

I.
Immunisierung von Kaninchen mit Pferdenierenemulsion. Bestimmung der Toxizität der Antisera für Meerschweinchen und Auswertung der hämolytischen Amboceptoren.

Frische, von der Schlachtbank beschaffte, tunlichst blutfreie Pferdeniere wurde zu 1 bis 2 g abgewogen, diese Mengen in steriler Reibschale möglichst fein zerrieben, sodann 0,85 % NaCl (10 bis 20 ccm) zugesetzt, emulgiert und die Emulsion Kaninchen intravenös, und zwar zur Vermeidung eines akuten Exitus oder eines allzu heftigen Choks sehr langsam in Mengen von 1 bis 2 ccm injiziert. Aderlässe aus den Ohrvenen; die abgeheberten Sera wurden sofort inaktiviert und entweder gleich zum Versuch verwendet oder durch Einfrieren konserviert. Die Auswertung der Amboceptoren in vitro geschah in der üblichen Weise (2 ccm NaCl, fallende Mengen Amboceptor, 0,05 ccm konzentrierte Suspension von Hammelerythrocyten, 0,05 ccm frisches Meerschweinchenserum als Komplement).

A. Kaninchen Nr. 441 (3200 g).

1. Aderlaß (vor der Immunisierung) am 4. XI.

Toxizität: Meerschw. 1, 170 g, 4,25 ccm i. v. + 4′
„ 2, 190 „ 3,80 „ „ keine Symptome.

Amboceptor (einfach lös. Dosis): 0,3 ccm.

9. XI. 1,0 ccm Pferdenierenemulsion i. v. (1 g auf 20 ccm NaCl).

2. Aderlaß am 14. XI.

Toxizität: Meerschw. 3, 200 g, 3,0 ccm i. v. + 2′
„ 4, 190 „ 1,9 „ „ + 3′
„ 5, 175 „ 0,9 „ „ + 3′
„ 6, 185 „ 0,46 „ „ + 8′
„ 7, 190 „ 0,28 „ „ + 5′
„ 8, 170 „ 0,17 „ „ + 30′
„ 9, 190 „ 0,19 „ „ Dyspnoe, überlebt.

Amboceptor (einf. lös. Dos.): 0,0003 ccm.

3. Aderlaß am 22. XI.

Toxizität: Meerschw. 10, 225 g, 2,25 ccm i. v. + 3′
„ 11, 260 „ 1,0 „ „ + 4′
(nicht weiter geprüft!)

Amboceptor: 0,0008 ccm.

4. Aderlaß am 17. XII. a. m.

Toxizität: Meerschw. 12, 160 g, 0,5 ccm i. v. + 4′
„ 13, 180 „ 0,4 „ „ 0
„ 14, 180 „ 0,2 „ „ 0

Amboceptor: 0,0008 ccm.

17. XII. p. m. 1,0 ccm Pferdenierenextrakt (2 g Niere auf 15 ccm NaCl).

5. Aderlaß am 18. XII.

Toxizität: Meerschw. 15, 180 g, 0,5 ccm i. v. + 4′
„ 16, 190 „ 0,4 „ „ überlebt, außer Dyspnoe keine Symptome.

Amboceptor: 0,0008 ccm.

6. Aderlaß am 23. XII.

Toxizität: Meerschw. 17, 180 g, 0,28 ccm i. v. + 6′
„ 18, 180 „ 0,24 „ „ + 4′
„ 19, 180 „ 0,16 „ „ + 4′
„ 20, 180 „ 0,12 „ „ Dyspnoe, überlebt.

Amboceptor: 0,0006 ccm.

7. Aderlaß am 26. XII.

8. Aderlaß am 13. I. 1913.

Toxizität: Meerschw. 21, 200 g, 0,36 ccm i. v. + 3′
„ 22, 200 „, 0,36 „ „ + 10′ Lungenödem.

Amboceptor: 0,0004 ccm.

Das Tier wurde am 14. I. 1913 entblutet.

B. Kaninchen Nr. 10.

17. II. 1,0 ccm Pferdenierenemulsion (2 g auf 15 NaCl) i. v.
23. 12. 0,8 „ „ (2 „ „ 20 NaCl) i. v.

1. Aderlaß am 29. XII.

Toxizität: Meerschw. 30, 175 g, 1,0 ccm i. v. + 4′
„ 31, 170 „ 0,7 „ „ keine Symptome.

Amboceptor: 0,0004 ccm.

30. XII. 1 ccm Pferdenierenemulsion (2:20) i. v.

2. Aderlaß am 5. I. 1913.

Toxizität: Meerschw. 33, 180 g, 0,8 ccm i. v. + 3′
„ 34, 185 „ 0,7 „ „ + 10′ Lungenödem.
„ 35, 185 „ 0,6 „ „ s. S., stirbt in 2 Std.
„ 36, 185 „ 0,4 „ „ 0

Amboceptor: 0,0004 ccm.

22. I. 1913. 1,0 ccm Pferdenierenemulsion (1:10) i. v.

3. Aderlaß am 28. I. 1913.

Toxizität: Meerschw. 37, 190 g, 0,5 ccm i. v. + 5′
„ 38, 205 „ 0,4 „ „ Dyspnoe, schwer krank, erholt sich.

Amboceptor: 0,0004 ccm.

4. Aderlaß am 1. II. 1913.

5. Aderlaß am 5. II. 1913.

Amboceptor: 0,004 ccm. Entblutet.

Wir sehen also, daß die Pferdenierenantisera für Meerschweinchen toxisch waren und Hammelblutamboceptoren von hohem Titer enthielten. Die Dosis letalis minima betrug in manchen Fällen (2. und 6. Aderlaß bei Kaninchen 441) nur 0,088 bis 0,1 ccm pro 100 g Meerschweinchengewicht. Zwischen dem Titer der hämolytischen Hammelamboceptoren und dem Grade der Giftigkeit bestand keine quantitative Relation, wie das schon Forssman für seine mit Meerschweinchenniere erzeugten Immunsera feststellte (vgl. z. B. den 6. Aderlaß bei Kaninchen 441 mit dem 2. Aderlaß bei Kaninchen 10).

Der Tod der Meerschweinchen erfolgte unter den typisch anaphylaktischen Symptomen, besonders bei Anwendung größerer Dosen und bei jenen Sera, deren Toxizität eine erhebliche war; schwach wirksame Sera oder kleine Mengen, die knapp an der Letalitätsgrenze standen und mit NaCl-Lösung verdünnt injiziert wurden, riefen oft Lungenödem, Herzthrombose und pulmonale Hämorrhagien hervor. Ob der Exitus, wie Forssman bei den Meerschweinchenorganantisera annimmt, durch Wirkung des

Antikörpers auf die Hirnzellen entsteht, möchten wir dahingestellt sein lassen, da die intravitalen Erscheinungen und der Obduktionsbefund (Lungenblähung) viel eher auf eine primäre Läsion der Lungen oder Bronchien, vielleicht auch des Endothels (Blutungen, Ödeme, Alteration der Gerinnbarkeit) hindeuten.

II.

Wie verhält sich der hämolytische Hammelblutamboceptor der Pferdenierenantisera hinsichtlich seiner Bindungsfähigkeit durch die Organzellen der verschiedenen Tiere?

Diese Adsorptionsversuche sollten uns nur zur allgemeinen Orientierung und als breitere Basis für das weitere Fortarbeiten dienen; wir haben daher eine Methode benutzt, die für diesen Zweck genügte (wie die Richtigkeit der aus den Resultaten abgeleiteten Deduktionen bewies) und den Vorzug hatte, eine Durchführung der zahlreichen Experimente ohne allzu großen Aufwand an Zeit und Material zu gestatten. Es wurden inaktive Pferdenierenantisera von hohem hämolytischem Titer für Hammelerythrocyten (0,0003 bis 0,0004 ccm) ausgewählt, die teils von Kaninchen 441, teils von Kaninchen 10 stammten, im Verhältnis 1 : 24 mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und der Amboceptorgehalt der Verdünnung neuerlich ausgewertet; die einfach lösende Dosis betrug, der Rechnung entsprechend, 0,009 bis 0,01 ccm. Hierauf wurde je 1 g verschiedener Organe einer Tierart mit je 5 ccm der Amboceptorverdünnung feinst verrieben, eine Stunde bei 37° gehalten, die Organpartikelchen durch scharfes Zentrifugieren entfernt und der Amboceptorgehalt der abpipettierten, überstehenden Flüssigkeiten neuerlich im hämolytischen Versuch mit Hammelblutkörperchen und Meerschweinchenkomplement bestimmt. Die folgenden Tabellen enthalten: 1. die Bezeichnung des Tieres, von dem die Organe stammten, 2. die Angabe des Organs, 3. die Menge der jeweils als Amboceptor verwendeten, durch Organadsorption beeinflußten 25 fachen Verdünnung des Pferdenierenantiserums.

Bei den Bindungen mit Erythrocyten kam stets 0,5 ccm einer konzentrierten Aufschwemmung der roten Blutkörperchen zur Anwendung.

+++ = komplette Hämolyse, ++ = fast komplett, + = partiell, 0 = keine Hämolyse (oder totale Hemmung), n. g = nicht geprüft.

Amboceptor	Tierart	Organe						
		Gehirn	Niere	Leber	Erythrocyten	Muskel	Herz	Lymphdrüse
0,3	Pferd	0	0	0	+++	n. g.	0	0
0,1		0	0	0	+++		0	0
0,08		0	0	0	+++		0	0
0,06		0	0	0	+++		0	0
0,04		0	0	0	+++		0	0
0,02		0	0	0	+++		0	0
0,01		0	0	0	+++		0	0
0,3	Meerschweinch.	0	0	0	+++	n. g.	n. g.	n. g.
0,1		0	0	0	+++			
0,08		0	0	0	+++			
0,06		0	0	0	+++			
0,04		0	0	0	+++			
0,02		0	0	0	++			
0,01		0	0	0	+			
0,3	Hammel	+++	+++	+++	0	n. g.	+++	+++
0,1		+++	+++	+++	0		+++	+++
0,08		+++	+++	+++	0		+++	+++
0,06		+++	+++	+++	0		+++	+++
0,04		+++	+++	+++	0		+++	+++
0,02		+++	+++	++	0		++	++
0,01		+++	+++	+	0		+	+
0,3	Rind	+++	+++	+++	+++	n. g.	+++	+++
0,1		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,08		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,06		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,04		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,02		+++	++	+++	+++		+++	+++
0,01		+	+	++	+		++	++
0,3	Kaninchen	+++	+++	+++	+++	n. g.	+++	n. g.
0,1		+++	+++	+++	+++		+++	
0,08		+++	+++	+++	+++		+++	
0,06		+++	+++	+++	+++		+++	
0,04		+++	+++	+++	+++		+++	
0,02		+++	++	++	+++		++	
0,01		+++	+	+	+		+	
0,3	Katze	0	0	++	+++	+++	0	n. g.
0,1		0	0	0	+++	++	0	
0,08		0	0	0	+++	+	0	
0,06		0	0	0	+++	0	0	
0,04		0	0	0	+++	0	0	
0,02		0	0	0	++	0	0	
0,01		0	0	0	0	0	0	
0,3	Hund	0	0	0	+++	0	0	n. g.
0,1		0	0	0	+++	0	0	
0,08		0	0	0	+++	0	0	
0,06		0	0	0	+++	0	0	
0,04		0	0	0	+++	0	0	
0,02		0	0	0	++	0	0	
0,01		0	0	0	+	0	0	

Tabelle (Fortsetzung).

Amboceptor	Tierart	Organe						
		Gehirn	Niere	Leber	Erythrocyten	Muskel	Herz	Lymphdrüse
0,3	Ratte	+++	+++	+++	+++	n. g.	+++	n. g.
0,1		+++	+++	+++	+++		+++	
0,08		+++	+++	+++	+++		+++	
0,06		+++	+++	+++	+++		+++	
0,04		+++	+++	+++	+++		+++	
0,02		+++	+	+++	+++		+++	
0,01		++	0	+	+		+	
0,3	Schwein	+++	+++	+++	+++	n. g.	+++	+++
0,1		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,08		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,06		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,04		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,02		++	+++	+++	+++		+++	++
0,01		+	++	++	++		+++	+
0,3	Mensch	+++	+++	+++	+++	n. g.	+++	+++
0,1		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,08		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,06		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,04		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,02		+++	+++	+++	+++		+++	+++
0,01		+	+	+	0		+	+
0,3	Maus	+++	0	+++	+++	0	++	n. g.
0,1		+++	0	+++	+++	0	++	
0,08		+++	0	+++	+++	0	++	
0,06		+++	0	+++	+++	0	Sp.	
0,04		+++	0	+++	+++	0	0	
0,02		++	0	+++	+++	0	0	
0,01		+	0	+	+++	0	0	
0,3	Gans	+++	+++	+++	n. g.	+++	+++	n. g.
0,1		+++	+++	+++		+++	+++	
0,08		+++	+++	+++		+++	+++	
0,06		+++	+++	+++		+++	+++	
0,04		+++	+++	+++		+++	+++	
0,02		+++	+++	+++		+++	+++	
0,01		+	+	+		+	+	
0,3	Huhn	0	0	0	+++	0	0	n. g.
0,1		0	0	0	++	0	0	
0,08		0	0	0	+	0	0	
0,06		0	0	0	0	0	0	
0,04		0	0	0	0	0	0	
0,02		0	0	0	0	0	0	
0,01		0	0	0	0	0	0	
0,3	Taube	+++	+++	+++	+++	+++	+++	n. g.
0,1		+++	+++	+++	+++	+++	+++	
0,08		+++	+++	+++	+++	+++	+++	
0,06		+++	+++	+++	+++	+++	+++	
0,04		+++	+++	+++	+++	+++	+++	
0,02		++	+++	+	+++	++	+	
0,01		+	+	0	++	+	0	

Tabelle (Fortsetzung).

Amboceptor	Tierart	Organe						
		Gehirn	Niere	Leber	Erythrocyten	Muskel	Herz	Lymphdrüse
0,3	Schildkröte	n. g.	0	0	n. g.	0	0	n. g.
0,1			0	0		0	0	
0,08			0	0		0	0	
0,06			0	0		0	0	
0,04			0	0		0	0	
0,02			0	0		0	0	
0,01			0	0		0	0	

Auf den ersten Blick können wir die geprüften Tierspezies nach dem Verhalten ihrer Organzellen zum hämolytischen Amboceptor der Pferdenierenantisera in folgende Gruppen einteilen:

1. Tiere, deren Organzellen den Amboceptor komplett binden, während die Erythrocyten gar kein oder doch nur ein geringeres Adsorptionsvermögen aufweisen. Hierher gehören das Pferd, das Meerschweinchen, die Katze, der Hund, das Huhn und — soweit dies untersucht werden konnte — die Schildkröte.

2. Tiere, bei denen im Gegensatze zur ersten Gruppe die Organzellen gar nicht binden, mit alleiniger Ausnahme der roten Blutkörperchen. Als einzige Repräsentanten waren Hammel und Ziege zu ermitteln.

3. Tiere, bei denen weder die Organzellen noch die Erythrocyten eine Affinität zum Amboceptor aufweisen: Rind, Kaninchen, Ratte, Mensch, Gans und Taube.

Nicht einreihen ließ sich in dieses Schema die (weiße) Maus; ihre Niere und die quergestreifte Stammesmuskulatur adsorbierte den Amboceptor scheinbar völlig, das Myokard fast völlig, Gehirn, Leber und Erythrocyten äußerten dagegen keinen nennenswerten Einfluß. Wir kommen darauf noch zurück und bemerken hier nur, daß wir bei der Maus das Gehirn als Ganzes verwendeten, während wir sonst stets die graue Substanz von der weißen mechanisch trennten und nur erstere als bindendes Substrat heranzogen. Es hatte sich nämlich in eigens darauf gerichteten Versuchen herausgestellt, daß nur die graue Substanz das Verhalten der übrigen Körperorgane aufweist, während das weiße Marklager oft diametral abweicht; so fixiert z. B. die Hirnrinde des Pferdes den Amboceptor des Pferdenieren-

antiserums genau so stark wie Pferdeniere, Pferdeleber oder Pferdemuskel, während Partien aus dem Centrum semiovale nicht die geringste Reduktion des Amboceptors herbeiführten.

Wenn nun die primäre Toxizität der Antisera im allgemeinen darauf beruht, daß dieselben einen Antikörper enthalten, der in den Organen des vergiftbaren Tieres ein Antigen vorfindet, so war zu fordern, daß die beschriebenen Pferdenierenantisera auf alle Tiere der ersten Gruppe pathogen wirken, für jene der dritten Gruppe aber vollkommen bland oder doch nicht giftiger sind als inaktives Normalkaninchenserum. Die Reaktionsfähigkeit der weißen Maus ließ sich im Sinne der Theorie nicht vorausbestimmen, da sie sowohl bindende als nicht bindende Organe zu besitzen schien. Voraussetzung der Übereinstimmung zwischen Bindungsversuchen und Toxizitätsexperimenten bildete allerdings die Annahme, daß der hämolytische Amboceptor für Hammelerythrocyten in den Pferdenierenantisera mit dem toxischen Prinzip derselben identisch ist oder doch denselben Gesetzen elektiver Adsorption folgt.

III.

Toxizität der Pferdenierenantisera für verschiedene Tierspezies.

A. Für Meerschweinchen.

Die betreffenden Daten sind den sub I wiedergegebenen Protokollen zu entnehmen.

B. Für Hunde.

Serum von Kaninchen 441 vom 14. I. 1913 (Entblutungsserum). Die Dos. let. minima betrug für 180 g Meerschweinchen i. v. 0,36 ccm, mithin 0,2 ccm für 100 g. Es stand leider nur ein Hund von 5400 g zur Verfügung, und es wären daher unter der Voraussetzung einer absolut gleichen Empfindlichkeit beider Tierspezies 10,8, rund 11 ccm notwendig gewesen, um akuten Exitus zu erzielen. Nun war auch nicht mehr Serum vorhanden, und wir injizierten also 11 ccm in die linke Jugularis. Nach dem Abbinden taumelte der Hund, schwankte hin uud her, brach zusammen und lag durch 10 Minuten somnolent mit geschlossenen Lidern da. Während dieser Zeit aufgerichtet, fiel er immer wieder nieder; nach 10 Minuten erholte sich das Tier und überlebte den Eingriff.

Das Serum war demnach toxisch und rief die Erscheinungen einer mäßig starken anaphylaktischen Reaktion hervor. Die größere Resistenz der Hunde gegen anaphylaktische Vorgänge im Vergleich zum Meerschweinchen kam deutlich zum Ausdruck.

C. Für Hühner.

α) Serum 441 vom 23. XII. (Dos. let. für ein Meerschweinchen von 180 g 0,16 ccm, für 100 g demnach 0,088 ccm.) Die Hühner wogen 850 bis 1050 g; das Serum wurde in die Flügelvene eingespritzt.

Huhn 1. 850 g, 2,0 S. 441 i. v., + 4′ unter den typischen anaphylaktischen Symptomen, die völlig einem akuten Chok beim Meerschweinchen glichen.

Huhn 2. 900 g, 1,4 S. 441 i. v., deutlich somnolent, legt sich nieder, schließt die Augen; erholt sich nach 10 Minuten und überlebt.

Huhn 3. 1000 g, 0,8 S. 441 i. v., keine Symptome.

Huhn 4 (Kontrolle). 2,0 inaktiviertes Normalkaninchenserum, keine Symptome.

β) Serum 441 vom 14. I. inaktiv (Dos. let. pro 100 g Meerschweinchen 0,2 ccm).

Huhn 1. 620 g, 4,0 ccm i. v., + 3′ dieselben Symptome wie beim anaphylaktischen Chok des Meerschweinchens.

Huhn 2. 700 g, 2,8 ccm i. v., somnolent, häufiger Stuhlabgang, überlebt.

Pro 100 g Lebendgewicht stellen sich demnach die letalen Dosen

	für Huhn	für Meerschweinchen
α)	0,23 ccm	0,088 ccm
β)	0,63 „	0,2 „

so daß also das Huhn etwa $2^1/_2$ bis 3 mal weniger empfindlich war wie das Meerschweinchen.

D. Für Kaninchen.

Serum 441 vom 23. XII. (Dos. let. pro 100 g Meerschweinchen 0,088 ccm.) Kaninchen Nr. 95 (normal) erhält 4,0 ccm i. v. und zeigt nicht die geringsten Symptome; es wog 1400 g und bei gleicher Empfindlichkeit hätten 1,13 ccm zu seiner Tötung ausreichen sollen.

E. Für Ratten.

α) Serum 441 vom 18. XII. (Dos. let. 0,3 ccm pro 100 g Meerschweinchen.)

Ratte 1. 1,0 ccm S. 441 in die Schwanzvene. Keine Symptome.
„ 2. 1,2 „ „ in die Jugularis. „ „

β) Serum 441 vom 23. XII. (Dos. let. 0,088 ccm pro 100 g Meerschweinchen.

Ratte 3. 1,0 ccm in die Jugularis. Keine Symptome.

F. Für Tauben.

Tauben von 300 bis 400 g; Injektion in die Flügelvene.

α) Serum 10 vom 5. I. 1913. (Dos. let. pro 100 g Meerschweinchen 0,38 ccm.)

Taube 1. 2,4 ccm i. v. Keine Symptome.

β) Serum 441 vom 13. I. 1913. (Dos. let. pro 100 g Meerschweinchen 0,15 ccm.)

Taube 3. 2,4 ccm i. v. Keine Symptome.

γ) Serum 441 vom 14. I. 1913. (Dos. let. pro 100 g Meerschweinchen 0,2 ccm.)

Taube 4. 3,0 ccm i. v. Keine Symptome.

G. Für weiße Mäuse.

Injektion in die Schwanzvene. Gewicht der Tiere 20 bis 25 g. Serum von Kaninchen 441 vom 13. I. 1913 (letale Dosis für 100 g Meerschweinchen 0,15 ccm).

Maus 1. 0,3 ccm S. 441 i. v. Keine Symptome.
„ 2. 0,2 „ „ „ „

Aus dem Vergleich der Bindungsversuche in vitro und der vorstehenden Tierexperimente lassen sich mehrere Sätze ableiten, die bisher nicht oder doch nicht zur Gänze bekannt waren:

1. Tierspezies, deren Organzellen den hämolytischen Hammelamboceptor eines Pferdenieren- oder (wie noch gezeigt werden soll) eines beliebigen Organantiserums fixieren, reagieren auf die intravenöse Zufuhr eines solchen Antiserums mit anaphylaktischen Symptomen. Die Erythrocyten der empfänglichen Tierarten haben zum erwähnten Amboceptor meist keine Affinität und vermögen die denselben enthaltenden Antisera nicht zu entgiften (vgl. hierzu auch Forssman).

Da die Möglichkeit zugegeben werden muß, daß gewisse in den Gewebszellen vorhandenen Stoffe infolge des Unterganges (der Auflösung) einzelner Zellen oder auch infolge des Stoffwechsels in die Zirkulation gelangen, so wird es verständlich, warum auch das Serum der in diese Gruppe gehörenden Tierspezies im Kaninchen die Bildung von hämolytischen Hammelamboceptoren und des damit eng zusammenhängenden toxischen Antikörpers auslöst. Für das Serum des Meerschweinchens ist diese Antigenwirkung durch Dschewad Orudschiew, für das Pferdeserum teils durch Friedberger, Doerr und Weinfurter, teils durch eigene nicht wiedergegebene Versuche erwiesen.

2. Tierspezies, deren Gewebszellen in vitro mit dem hämolytischen Amboceptor der Organantisera nicht reagieren, werden durch die intravenöse Injektion der letzteren nicht geschädigt. Das ist auch der Grund, warum im Körper des Kaninchens

das toxische Prinzip eines Organantiserums oder eines gewöhnlichen Hammelblutimmunserums entstehen und in enormen Mengen angehäuft werden kann, ohne daß das Kaninchen selbst leidet; wie die sub II. angeführte Tabelle lehrt, besitzen Kaninchenorgane keine Avidität zu den Antikörpern der für Meerschweinchen, Hunde und Hühner toxischen Antisera.

3. Tiere aus der ersten Gruppe reagieren auf die Injektion gleicher, auf das Körpergewicht berechneter Dosen eines toxischen Antiserums verschieden. Am stärksten wirkt die Noxe auf Meerschweinchen, weniger stark auf Hühner, am schwächsten auf den Hund, eine Skala, die der Empfänglichkeit dieser 3 Tierspezies für typisch anaphylaktische Prozesse entspricht.

4. Die Noxe entsteht durch die Verbindung zwischen den Organzellen der empfänglichen Tierspezies und dem Amboceptor des toxischen Antiserums ohne Intervention von Komplement im Gegensatze zu den Behauptungen von Friedberger, v. Dungern und Hirschfeld. Hühnerkomplement vermag nämlich den hämolytischen Amboceptor eines Pferdenierenantiserums nicht zu reaktivieren (eigene Versuche); nichtsdestoweniger verenden Hühner auf die Injektion solcher, sorgfältig inaktivierter Sera im akuten Chok.

Interessant ist endlich das Verhalten der weißen Mäuse, die durch Pferdenierenantiserum nicht getötet, ja nicht einmal krank werden, obwohl einzelne ihrer Organe den Amboceptor binden und obwohl die weiße Maus anaphylaktisch reagieren kann (Sachs, Ritz). Es drängt sich der Gedanke auf, daß die mangelnde Avidität der Hirnzellen zum Antikörper (siehe die Tabelle sub II.) dafür im Sinne Forssmans verantwortlich zu machen sei, d. h. daß der Chok bei der weißen Maus nur deshalb ausbleibt, weil die den Amboceptor bindenden Organe (Niere, Stammuskel, Myokard) keine unmittelbare Lebenswichtigkeit besitzen. Abgesehen davon, daß dieser Schluß schon aus dem Grunde lückenhaft wäre, weil andere Organe der weißen Maus (Endothelien, Lungen, Leukocyten usw.) gar nicht untersucht wurden, sind ja auch die Bindungsversuche, wie bereits betont, nicht völlig einwandfrei, da sich das Organeiweiß durch Zentrifugieren nicht völlig entfernen läßt und unter Umständen die Hämolyse auch bei vorhandenem Amboceptor zu hemmen

vermag. Schließlich braucht die Voraussetzung, daß sich die hämolytischen und die toxischen Amboceptoren der Organantisera hinsichtlich der Adsorption identisch verhalten, nicht richtig zu sein, und es schien daher am einfachsten, zu prüfen, ob sich das toxische Prinzip eines Pferdenierenantiserums gegen verschiedene Mausorgane verschieden verhält oder nicht. Da ergab sich nun, daß gar kein Organ der Maus entgiftend resp. in vitro bindend wirkt, womit der Mangel der Giftigkeit der Organantisera für Mäuse eine einfache Lösung findet.

A.

Serum eines mit Pferdeniere i. v. immunisierten Kaninchens Nr. 824 wird inaktiviert, mit dem doppelten Volumen physiologischer NaCl-Lösung versetzt, je $5^1/_2$ ccm mit 1 g verschiedener Mausorgane und zur Kontrolle auch mit Meerschweinchenniere verrieben, 1 Stunde bei 37° belassen, die Organe sodann abzentrifugiert und die Toxizität der überstehenden Flüssigkeiten durch intravenöse Injektion an Meerschweinchen ausgewertet.

Serumverd. unverändert:	Meerschw.	270,	190 g,	1,6 ccm	i. v.	+ 3′
Meerschweinchenniere .	„	271,	195 „	3,0 „	„	keine Symptome
Mäusehirn	„	272,	200 „	2,0 „	„	+ 6′
„	„	273,	150 „	1,6 „	„	+ 4′
Mäuseniere	„	274,	200 „	2,0 „	„	+ 5′
Mäusemuskel	„	275,	190 „	2,5 „	„	+ 2′
Mäuseherz	„	276,	190 „	2,0 „	„	+ 4′
Mäuseleber	„	277,	225 „	2,0 „	„	+ 15′
„	„	278,	150 „	2,0 „	„	+ 5′
Rinderniere	„	279,	200 „	2,0 „	„	+ 4′

Bei der Titration der hämolytischen Amboceptoren für Hammelerythrocyten zeigte sich übrigens, daß nur die Adsorption mit Meerschweinchenniere dieselben zur Gänze entfernt hatte, während die Behandlung mit Mäuseniere, Muskel und Myokard bloß eine zeitliche Hemmung der Hämolyse bewirkte, die sich bei entsprechend langer Beobachtungsdauer wieder ausglich. Nur bei den kleinsten Dosen blieb die Hämolyse aus; die Widersprüche mit der sub II. angeführten Tabelle erklären sich dadurch, daß dort die Organantisera 25fach, im vorliegenden Falle bloß 3fach verdünnt wurden.

B.

Ein zweiter analoger Versuch mit einem anderen Pferdenierenantiserum lieferte ein absolut identisches Resultat.

IV.

Immunisierung von Kaninchen mit Organen anderer Tiere.

Nach unseren Auffassungen über das Verhältnis von Antigen und Antikörper in vitro und in vivo war vorauszusehen, daß sich die gleichen Resultate wie mit Meerschweinchen- und Pferdeorganen auch mit Organen anderer Tier der ersten Gruppe (Katze, Hund, Huhn) erzielen lassen werden. Organe (vom Rinde, von der Gans, Ratte usw.), die den hämolytischen Amboceptor des Pferdenierenantiserums in vitro nicht binden, können dagegen im Kaninchen weder die Produktion eines solchen Amboceptors (Forssman) noch eines für Meerschweinchen, Hühner oder Hunde toxischen Antikörpers bewirken.

A. Kaninchen Nr. 857.

Immunisiert mit Hühnerniere.

30. XII. 1 ccm Hühnernierenemulsion i. v. (1 g auf 10 ccm NaCl).
8. I. Dasselbe.
14. I. 1913. 1. Aderlaß.

Toxizität:	Meerschw. 60.	1,6 ccm	i. v.	+ 3′.	
	„ 61.	0,8 „	„	+ 10′	Lungenödem.
	„ 62.	0,4 „	„	Keine Symptome.	

Amboceptor für Hammelerythrocyten (einfach lös. Dos.): 0,0006 ccm. Der Amboceptor löste nur Hammelerythrocyten, nicht aber Blutkörperchen vom Meerschweinchen, von der Katze, vom Kaninchen oder vom Hunde. Es wurde durch Hühner-, Pferde-, Meerschweinchen-Niere, nicht aber von Ochsenniere gebunden. Das Kaninchen verendete am 22. I. 1913 an Sepsis, so daß der Versuch nicht weiter fortgesetzt werden konnte.

B. Kaninchen Nr. 807.

30. XII. 1 ccm Ochsennierenemulsion (2 g : 10 ccm NaCl).
9. I. 1 „ „ (2 g auf 20 ccm NaCl).
15. I. Aderlaß.

Toxizität: Meerschw. 73. 2,4 ccm i. v. Keine Symptome.
Hammelamboceptor: 0,05 ccm.
Das Serum enthielt keine Amboceptoren für Erythrocyten von Huhn, Kaninchen, Meerschweinchen und Hund.

22. I. 1,0 Ochsennierenemulsion i. v. (1 g auf 10 ccm NaCl).

Toxizität:	Meerschw. 74.	2,4 ccm	i. v.	Keine Symptome.
	Ratte 8.	2,0 „	i. v.	„ „

Amboceptor f. Hammel-E.: 0,008 ccm.

2. II. 13. 1,4 ccm Ochsennierenemulsion. (1 g auf 10 ccm NaCl). Das Kaninchen verendet innerhalb 3 Minuten im akuten Chok (Organextraktwirkung); ausgedehnte Thrombosen.

V.

Kann man von Meerschweinchen durch Immunisierung mit Pferdeniere ein für Meerschweinchen pathogenes Serum oder Hammelhämolysine erhalten?

Die Antwort war, wie bei ähnlichen Versuchen von Forssman und Dschewad Orudschiew eine verneinende.

α) Großes Meerschweinchen Nr. 80 erhält am 17. und 23. XII. je 0,1 g Pferdeniere, das erstemal subcutan, das zweitemal intraperitoneal. Am 3. I. wird das Tier entblutet. Das gewonnene, inaktivierte Serum löste selbst in Mengen von 0,2 ccm Hammelblutkörperchen nicht, und zwar weder mit Kaninchen- noch mit Meerschweinchenkomplement.

Meerschw. 75[1]) erhält 3,0 ccm Serum von Meerschw. 80 i. v.; zeigt keine Symptome.

β) Großes Meerschweinchen 81.

23. XII. 0,1 g Pferdeniere intraperitoneal.

30. XII. 0,2 g " "

7. I. 1913. 0,05 g Pferdeniere i. v., anaphylakt. Symptome, erholt sich.

13. I. Entblutet. Das inaktivierte Serum, geprüft wie sub α, enthält keinen Amboceptor für Hammelerythrocyten.

Toxizität: Meerschw. 76[1]), 3,0 ccm Serum von Meerschw. 81 i. v. Keine Symptome.

γ) Großes Meerschweinchen 82.

7. I. 0,1 g Pferdeniere intraperitoneal.

22. I. Dasselbe.

29. I. 0,05 g intravenös.

3. II. Entblutet. Keine hämolytischen Amboceptoren.

Toxizität: Meerschw. 77[1]), 3,0 ccm Serum von Meerschw. 82 i. v.

Dieses negative Resultat begreift sich aus dem Umstande, daß das Meerschweinchen in allen seinen Organen ein der Pferdeniere offenbar gleichwertiges, wenn nicht identisches Antigen in größter Menge enthält, ja sogar Spuren davon in seinem Blutplasma besitzt (Dschewad Orudschiew); die Injektion eines Eiweißsubstrates, das nicht als „körperfremd", ja nicht einmal als „blutfremd" bezeichnet werden kann, ruft nach unseren bisherigen Kenntnissen keine Antikörperproduktion hervor.

Aussichtsvoller schien es, Meerschweinchen mit Organen vom Rinde, von der Ratte, der Gans, dem Kaninchen zu immunisieren, kurz mit Geweben, die hinsichtlich der Affinität zum hämolytischen Amboceptor der Pferdenierenantisera vom

---

[1]) Tiere von 150 bis 180 g.

Organeiweiß des Meerschweinchens diametral verschieden sind. Es wäre immerhin möglich, auf diesem Wege Antisera zu erlangen, die nicht nur für die Tierspezies, von der die Organe stammen, sondern auch für andere Spezies der gleichen Kategorie pathogen sind oder eventuell hämolytische Amboceptoren für eine andere Erythrocytenart als die des Hammels aufweisen. Unsere einschlägigen Experimente, die also darauf abzielen, eine zweite Kombination zu finden, die analoge Relationen aufweist, wie die bekannte (Kaninchen als Immuntier, Hammelerythrocyten und Organe von Pferd, Meerschweinchen, Hund, Katze, Huhn), stehen noch in ihren ersten Anfängen. Bisher konnten wir bloß konstatieren, daß die wiederholte Behandlung eines Meerschweinchens mit Ochsenniere ein Serum lieferte, das bei Tauben und Ratten allerdings schwache Symptome in großen Dosen hervorrief.

VI.

Wie verhalten sich Tumorzellen im Vergleich zu Organzellen des Tumorträgers hinsichtlich ihrer Avidität zu den hämolytischen Amboceptoren der Organantisera?

Ein skirrhöses Mammacarcinom und ein medulläres Sarkom (Lebermetastasen) des Menschen wurden mechanisch vom gesunden Gewebe getrennt, in großen Stücken gewaschen, und je 1 g mit einem 25 fach verdünnten Pferdenierenantiserum (von Kan. 441) fein zerrieben. Sodann wurden die Tumorzellen abzentrifugiert, und die überstehende Flüssigkeit als Amboceptor austitriert (+ 0,05 konz. Suspension von H.-E. + 0,05 Meerschweinchenkomplement).

	Kontrolle	Mammacarc.	Sarkom	NormaleLeber
0,3	+++	+++	+++	+++
0,2	+++	+++	+++	+++
0,15	+++	+++	+++	+++
0,1	+++	+++	+++	+++
0,08	+++	+++	+++	+++
0,06	+++	+++	++	+++
0,04	+++	+++	+	+++
0,02	+++	+++	0	+++
0,01	+++	+++	0	+

Das Mamacarcinom fixierte demnach den Amboceptor wie normales Menschengewebe nicht, bestand auch, wie das histologische Bild derartiger Geschwülste beweist, größtenteils aus Stroma, also aus Anteilen, die vom Tumorträger geliefert werden; hingegen erwies sich das Sarkom als wesentlich stärker bindend.

Die Untersuchung einer tumorkranken Maus ergab folgende Tabelle:

	Kontrolle	Leber	Gehirn	Niere	Herz	Tumor
0,3	+++	+++	+++	0	0	0
0,1	+++	+++	+++	0	0	0
0,06	+++	+++	+++	0	0	0
0,04	+++	+++	+++	0	0	0
0,02	+++	++	+	0	0	0
0,01	+++	+	0	0	0	0

Vielleicht öffnet sich hier ein Weg, um neue biologische Unterschiede zwischen Tumor- und normalen Gewebszellen zu ermitteln; wir begnügen uns vorläufig mit dem Hinweis darauf, da die eigenen Erfahrungen zu gering an Zahl sind, um sie zu allgemeineren Schlüssen zu verwerten.

VII.
Eigenschaften der Antigene primär toxischer, für Hammelerythrocyten lytischer Antisera.

Eine der merkwürdigsten Eigenschaften des in Hammelerythrocyten, in den Organen des Meerschweinchens, Pferdes, der Katze, des Hundes, Huhnes usw. enthaltenen Antigens ist wohl seine außerordentliche Widerstandsfähigkeit gegen eiweißkoagulierende Einflüsse, die wir zu benützen gedenken, um über seine Natur genauere Daten zu erlangen. An dieser Stelle seien nur die protokollarischen Belege für die aufgestellte Behauptung zitiert.

Während Serumeiweiß durch Kochen sowohl in konzentrierter, als mit destilliertem Wasser verdünnter Lösung seine antigenen, vornehmlich die anaphylaktogenen Fähigkeiten einbüßt (Wells, Doerr und Ruß), kann man z. B. Pferdeniere viele Stunden kochen, ohne daß ihr Vermögen verloren geht, in vitro den Amboceptor eines hämolytischen Pferdenierenantiserums zu binden; immunisiert man Kaninchen mit dem gekochten Organ, so bilden sie hochwertige Hammelamboceptoren und ihr Serum ist für Meerschweinchen stark toxisch. Das gleiche beobachtet man, wenn man fein zerteilte Pferdeniere wochenlang in absolutem, öfters gewechseltem Alkohol aufbewahrt. Um vor Irrtümern geschützt zu sein, wurde zur Kontrolle Ochsenniere den gleichen Eingriffen unterworfen und zu vitro-Versuchen und Tierexperimenten verwendet.

A. Bindungsversuche mit gekochter Pferde- und Ochsenniere.

α) Pferde- und Ochsenniere wurde fein zerhackt und in reichlichen Mengen physiologischer NaCl-Lösung mehrere Stunden gekocht (bis zu 6 bis 8 Stunden). Dann wurde je ein Gramm abgewogen, mit einer 25 fachen Verdünnung eines Pferdenierenantiserums von Kan. 10 (5 ccm) fein verrieben, der Organbrei abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit auf ihren Gehalt an lytischem Amboceptor für Hammelerythrocyten austitriert.

	Kontrolle	Koktoniere (Pferd)	Koktoniere (Rind)	Normale Meerschweinchenniere
0,3	+++	0	+++	0
0,1	+++	0	+++	0
0,08	+++	0	+++	0
0,06	+++	0	+++	0
0,04	+++	0	+++	0
0,02	+++	0	+++	0
0,01	+++	0	+++	0

β) Kaninchen Nr. 888 bekam am 27. I., am 1. II. und am 6. II. je 2,0 ccm Hammelerythrocyten i. v. — Am 11. II. wird ein Aderlaß aus der Ohrvene gemacht, das abgeheberte Serum inaktiviert und auf seine Toxizität für Meerschweinchen ausgewertet. (Tiere von 180 bis 200 g.)

Toxizität:	Meerschw.	92,	1,0 ccm	i. v.	+ 4′
	„	93,	0,4 „	„	+ 2′
	„	94,	0,2 „	„	+ 8′
	„	95,	0,16 „	„	+ 4′
	„	96,	0,12 „	„	+ 14′
	„	97,	0,08 „	„	schwache S., überlebt.

Amboceptor: 0,0001 ccm.

Von diesem Serum wird eine Verdünnung von 1 : 4 physiologische NaCl-Lösung angefertigt, von der die knapp letale Dosis für ein Meerschweinchen von 180 bis 200 g 0,6 ccm beträgt (wie die Rechnung und eine nochmalige Kontrolle zeigt). Von dieser Verdünnung werden je 6,5 ccm fein verrieben

1. mit 1 g Pferdeniere,
2. mit 1 g Ochsenniere,
3. mit 1 g gekochter Pferdeniere,
4. mit 1 g gekochter Ochsenniere,

die Organserumgemische eine Stunde bei 37° gehalten, sodann scharf zentrifugiert und die überstehenden Flüssigkeiten abpipettiert. Die Toxizität der letzteren für Meerschweinchen von 180 bis 200 g zeigte folgendes Verhalten:

1. Adsorption mit unveränderter Pferdeniere.

Meerschw. 100, 2,0 ccm i. v. (= 0,4 Originalserum), keine Symptome.
" 101, 1,0 " " (= 0,2 "), " "

2. Adsorption mit unveränderter Ochsenniere.

Meerschw. 102, 1,0 ccm i. v. (= 0,2 Originalserum) + 9'
" 103, 0,8 " " (= 0,16 ") + 6'
" 104, 0,6 " " (= 0,12 ") + 22' Lungenödem.

3. Adsorption mit gekochter Pferdeniere.

Meerschw. 105, 2,2 ccm i. v. (= 0,45 Originalserum), keine Symptome.
" 106, 1,6 " " (= 0,32 "), " "
" 107, 1,0 " " (= 0,2 "), " "

4. Adsorption mit gekochter Ochenniere.

Meerschw. 108, 0,8 ccm i. v. (= 0,16 Originalserum) + 4'
" 109, 0,7 " " (= 0,15 ") + 15' (größ. Tier!)
" 110, 0,6 " " (= 0,12 ") + 10'

B. Bindungsversuche mit gekochten Hammelerythrocyten.

Es wurden zwei Sera benutzt: Serum von Kaninchen 888, erhalten durch Immunisierung mit unveränderten Hammelerythrocyten (siehe sub A. β) und Serum von Kaninchen 10, ein Pferdenierenantiserum. Beide wurden 25fach verdünnt; die Verdünnungen hatten einen Amboceptor vom Titer 0,01 resp. 0,02 ccm.

Jede Serumverdünnung wurde in 2 Portionen à 5 ccm geteilt und eine Hälfte mit 1 ccm konzentrierter Suspension unveränderter, die andere mit 1 ccm konzentrierter Suspension gekochter Hammelerythrocyten versetzt. Nach 1 Stunde Aufenthalt bei 37° wurde abzentrifugiert und der Gehalt der überstehenden Flüssigkeit an lytischem Amboceptor für Hammelerythrocyten austitriert.

Tabelle.

Dosis	Pferdenierenantiserum adsorbiert mit H.-E.		Hammelhämolysin adsorbiert mit H.-E.	
	gekochten	nativen	gekochten	nativen
0,3	0	0	+++	0
0,2	0	0	+++	0
0,15	0	0	+++	0
0,1	0	0	+++	0
0,08	0	0	+++	0
0,06	0	0	+++	0
0,04	0	0	++	0
0,02	0	0	0	0
0,01	0	0	0	0

C. Bindungsversuche mit Alkohol-Organen.

Fein gehackte Pferde- resp. Ochsenniere wurde in größere Mengen absoluten Alkohols geworfen, der Alkohol mehrmals gewechselt, sodann (nach 9 Tagen) je 1 g Substanz abgewogen und mit 5 ccm verdünnten Pferdenierenantiserums (1 : 25) vom Kaninchen 10 verrieben. Nach einstündigem Verweilen abzentrifugiert; Titration des lytischen Hammelamboceptors in den überstehenden Flüssigkeiten.

	Kontrolle	Alkoholniere (Pferd)	Alkoholniere (Ochs)
0,3	+++	0	+++
0,2	+++	0	+++
0,15	+++	0	+++
0,1	+++	0	+++
0,08	+++	0	+++
0,06	+++	0	+++
0,04	+++	0	+++
0,02	+++	0	++
0,01	++	0	+

D. Immunisierung mit gekochter Pferde- und Ochsenniere.

α) Kaninchen Nr. 877 immunisiert mit kleingehackter, 6 bis 8 gekochter (in 0,85 % NaCl) Pferdeniere.

30. I. 0,2 g Nierensubstanz i. v.
4. II. 0,2 g " "

1. Aderlaß am 10. II.

Toxizität: Meerschw. 132, 3,0 ccm i. v. + 3′
" 133, 2,5 " " + 3′
" 134, 2,0 " " leichte S., überlebt.

Amboceptor für Hammel-E. (einfach lösende Dosis) = 0,001 ccm.

11. II., 0,1 g i. v.

2. Aderlaß am 17. II.

Toxizität: Meerschw. 136, 2,5 ccm. i. v. + 4′
" 137, 2,0 " " Keine Symptome.

Amboceptor: 0,002 ccm.

3. Aderlaß am 20. II. (längeres Intervall seit der letzten Antigenzufuhr!).

Toxizität: Meerschw. 139, 2,9 ccm i. v. + 3′
" 140, 2,35 " " + 3′
" 141, 2,0 " " + 9′
" 142, 1,4 " " Keine Symptome.

β) Kaninchen 899 immunisiert mit gekochter Ochsenniere.

30. I. 0,2 g Nierensubstanz i. v.
4. II. 0,2 " " "

1. Aderlaß am 10. II.

Toxizität: Meerschw. 150, 3,0 ccm i. v. Keine Symptome.
„ 151, 2,5 „ „ „ „

Amboceptor für Hammelerythrocyten selbst in Dosen von 0,05 nicht nachweisbar.

11. II. 0,1 g Nierensubstanz i. v.

2. Aderlaß am 17. II.

Toxizität: Meerschw. 152, 3,3 ccm i. v. Keine Symptome.
Amboceptor: Nicht nachweisbar.

3. Aderlaß am 20. II.

Toxizität: Meerschw. 154, 4,0 ccm i. v. Keine Symptome.
„ 155, 3,2 „ „ „ „

Wir möchten besonders darauf aufmerksam machen, daß sich in den Hammelerythrocyten zwei Antigene vorfinden, die beide lytische Amboceptoren für Hammelerythrocyten erzeugen: ein thermolabiles und ein koktostabiles. Das koktostabile, wahrscheinlich identisch mit dem Antigen in den Organen bestimmter Tiere, bindet den lytischen Amboceptor der Organantisera völlig, den der Hammelimmunhämolysine natürlich nur partiell, unter Umständen gar nicht; ungekochte Hammelblutkörperchen berauben beiderlei Immunsera völlig ihrer lösenden Eigenschaften.

So erklären sich die zahlreichen Widersprüche in den Angaben über erhitzte Blutantigene wenigstens für Hammelblutzellen völlig. Bang und Forssman fanden, daß in NaCl-Lösung aufgeschwemmte Erythrocyten oder Stromata nach 2 Minuten langem Kochen ihr Bindungsvermögen für den Amboceptor eines Immunhämolysins verloren hatten, während die immunisierende Wirkung der Stromata erhalten blieb, und zogen daraus einen Schluß auf die Verschiedenheit der immunisierenden und fixierenden Substanzen. Muir und Ferguson, Landsteiner und Prášek hatten andere Ergebnisse; insbesondere die letzteren konstatierten, daß das Bindungsvermögen gekochter Stromata für Immunhämolysine nicht völlig aufgehoben ist, und daß die Amboceptoren solcher Immunsera, die durch erhitzte Stromata hergestellt wurden, durch erhitzte Stromata sehr gut gebunden werden. Landsteiner und Prášek deuten diese Erscheinung als Zustandsspezifität im Sinne von Obermeyer und Pick. Für die

Hammelerythrocyten und ihr Verhalten beim Kochen trifft weder die Deutung von Bang und Forssman, noch jene von Landsteiner und Prášek zu, sondern die komplexe Natur des Erythrocytenantigens und die korrespondierende Zusammensetzung der Immunsera aus einem Gemisch von mindestens 2 Amboceptoren liefert anscheinend den richtigen Schlüssel. Wie sich die Dinge bei anderen Erythrocyten (vom Pferde, Kaninchen usw.) verhalten, mit denen die genannten Autoren gearbeitet, wollen wir in einer späteren Arbeit feststellen.

VIII.

Vorkommen der Antigene im Harne.

Durch die Arbeiten von Schattenfroh, Landsteiner und v. Eisler aus den Jahren 1901 und 1903 wissen wir, daß nach Injektionen von Harn spezifische Antikörper auftreten. Landsteiner und v. Eisler injizierten Kaninchen normalen Menschenharn und erhielten präcipitierende Sera, die zu normalem oder nephritischem Menschenharn im Verhältnis 1:5 zugesetzt, flockige Niederschläge hervorriefen. Da Menschenantisera (gewonnen mit Menschenserum) im normalen Harne keine oder doch keine so starke Präcipitation erzeugten, wie es ihrer Wirkung auf Menschenserum entsprochen hätte, so hielten es Landsteiner und v. Eisler für wenig wahrscheinlich, daß der die Reaktion bedingende Bestandteil des Harnes nichts anderes als ein Bestandteil des Blutserums sei; sie erklären es für wahrscheinlicher, daß diese Substanzen den harnbereitenden Organen entstammen, da Harnantiserum auch Präcipitation in einem auf 60^0 erhitzten Extrakt von menschlicher Nierenrinde hervorrief, trotzdem die Niere vorher blutfrei gemacht worden war. Die präcipitablen Harnstoffe ließen sich durch Ammonsulfat aussalzen.

Wir untersuchten daher, ob sich nicht im Pferdeharn das lysinogene Eiweiß der Pferdeorgane findet, das ja nach unseren Untersuchungen in geringen Mengen auch in die Zirkulation des Tieres, d. h. in das Blutplasma, übertritt.

Zunächst wurde die lösende Dosis eines Pferdenierenantiserums für Hammelerythrocyten bestimmt (Kaninchen 10) und das dreifache Multiplum derselben mit 0,05 ccm Hammelerythrocyten und fallenden Mengen Pferdeharn versetzt (0,3, 0,2, 0,15, 0,1, 0,08, 0,06, 0,04, 0,02 und 0,01 ccm),

nachdem Kontrollen ergeben hatten, daß Pferdeharn an sich weder hämolytisch wirkt, noch die Hämolyse anderer Systeme hemmt. Sodann fügten wir zu jedem Röhrchen 0,05 ccm Meerschweinchenkomplement. In den ersten 15 Minuten waren bei komplett gelöster Kontrolle alle Pferdeharnröhrchen bis zu 0,08 ccm Pferdeharn gehemmt; in dem Röhrchen mit 0,3 ccm blieb die Hämolyse dauernd aus.

Ochsenharn hatte gar keine hemmenden Effekte.

Später fällten wir, um die Substanz in konzentrierterem Zustande zu gewinnen, 400 ccm Pferdeharn (und zur Kontrolle 400 ccm Menschenharn) mit Ammonsulfat bei Ganzsättigung aus; der Niederschlag wurde abfiltriert, im Pergamentschlauch gegen Leitungswasser dialysiert und auf dem Wasserbade auf 40 ccm eingedampft, wobei alle Bestandteile des Dialysates infolge der Erhitzung in Lösung gingen. Beim Abkühlen entstanden wieder voluminöse Präcipitate; es blieb vorläufig nichts anderes übrig, als die getrübten, durch Aufschütteln homogenisierten Substrate zum Bindungsversuch zu benutzen. Auch diesmal hemmten die aus Pferdeharn ausgesalzenen Stoffe deutlich und in Mengen von 0,1 bis 0,3 ccm dauernd, die aus Menschenharn stammenden beeinflußten die Hämolyse der Hammelerythrocyten durch Pferdenierenantiserum nicht im geringsten. Die erwartete Konzentration der im Pferdeharn vermuteten Antigene war also keine zehnfache, sondern höchstens eine dreifache; vielleicht passierten diese Eiweißkörper partiell die Pergamentmembran oder erlitten bei dem ganzen Verfahren eine Alteration.

Viel wichtiger ist es, daß wir durch Injektion relativ geringer Quanten Pferdeharn beim Kaninchen typische Hammelhämolysine von hohem Titer zu erzeugen vermochten und daß die gewonnenen Sera im inaktiven Zustande für Meerschweinchen hochtoxisch waren. Hierfür ein Beispiel.

Kaninchen Nr. 804 hat am 25. II. vor Beginn der Immunisierung normale Amboceptoren für Hammelerythrocyten vom Titer 0,04 ccm.

26. II. 8,0 ccm normalen Pferdeharn i. v.
27. II. Dasselbe.
3. III. 5,0 ccm Pferdeharn i. v.
4. III. 5,0 „ „ „
7. III. 4,0 „ „ „ , 5 ccm intraperitoneal.
15. III. Aderlaß.

Amboceptor: 0,0004 +++, 0,0002 ++, 0,0001 ∅.

Toxizität: Meerschw. 300, 1 ccm S. 804 i. v. + 3′, typisch anaphylaktischer Befund.

Weitere Versuche und Immunisierungen von Kaninchen mit Pferde-, Ochsen- und Menschenharn sind im Zuge; wir werden darüber in einer anderen Mitteilung berichten.

IX.

Wir möchten diese Veröffentlichung nicht schließen, ohne auf gewisse Beziehungen des ganzen Problems der primär toxischen Antisera zur Technik anaphylaktischer Experimente mit Blutkörperchen und Organextrakten hinzuweisen. Die letzteren werden wie bekannt am Meerschweinchen ausgeführt, als dem empfindlichsten Versuchstier, und es ist naheliegend, daß man in vielen Fällen Hammelerythrocyten oder Pferdegewebe als Antigene benutzt.

Es seien hier drei spezielle Anordnungen herausgegriffen, deren Resultate zeigen, welchen Fehlerquellen man hierbei ausgesetzt ist, und die sich eng an die vorstehenden Versuche anlehnen.

α) Es ist nicht möglich, Meerschweinchen mit einem Pferdenierenantiserum vom Kaninchen gegen Pferdeniere oder gegen Hammelerythrocyten passiv anaphylaktisch zu machen. Der Grund liegt darin, daß der vorgespritzte Antikörper des genannten Serums sofort aus dem Meerschweinchen verschwindet, weil er durch das in den Organen dieses Tieres enthaltene Antigen fixiert wird.

Serum von Kaninchen 10 vom 28. I. (Amboceptor für H.-E. = 0,0004 ccm, Dos. let. für 100 g Meerschweinchen ca. 0,25 ccm i. v.) wurde in der Menge von 1,2 ccm 4 Meerschweinchen intraperitoneal am 30. I. eingespritzt. 18 Stunden später erhielt

Meerschweinchen	1	0,05 g Pferdeniere i. v.	Keine Symptome.
„	2	0,1 g „ „	„ „
„	3	0,2 ccm Hammelerythrocyten i. v.	„ „
„	4	0,2 „ „ „	„ „

Um das Verschwinden aus der Blutbahn zu demonstrieren, wurden 4 Tiere mit Serum 10 intraperitoneal injiziert.

Nr. 1 erhielt 3,5 ccm, wurde nach 2 Stunden entblutet und hatte im Peritoneum 10 ccm klares Transsudat. Sein Serum enthielt ebensowenig wie das Transsudat auch nur eine Spur Hammelamboceptor.

Nr. 2, 3 und 4 erhielten je 2,2 ccm Serum 10 intraperitoneal, wurden nach 4, 23 und 29 Stunden entblutet und hatten in der Zirkulation keine nachweisbaren Amboceptormengen.

β) Passive Anaphylaxie gegen Hammelerythrocyten, erzeugt durch präventive Injektion eines Hammelblutimmunserums. Daß dieses Experiment mit positivem Erfolg durchführbar ist, lehren zahlreiche Daten von Thomsen, Doerr und Moldovan, H. Pfeiffer, Doerr und Weinfurter. Es war aber Doerr aufgefallen, daß die anaphylaktischen Reaktionen in seinen Versuchen mit Moldovan außerordentlich intensiv ausfielen und schon durch minimalste Antigenmengen ausgelöst werden konnten, während in analogen späteren

Versuchen mit Hammelhämolysinen, die auf Meerschweinchen enorm toxisch wirkten, nur minimale Grade passiver Anaphylaxie resultierten, trotzdem große Dosen Antiserum zur Präparierung und erhebliche Quanten Antigen (Hammelerythrocyten) zur Auslösung des Choks benutzt wurden.

Nun erfahren wir durch Dschewad Orudschiew, dessen Erfahrungen den unsrigen konform sind, daß die Amboceptoren der Hammelblutimmunsera durch Meerschweinchenorgane in sehr wechselndem Grade, bald stärker, bald schwächer gebunden werden und werden wohl nicht fehlgehen, wenn wir darauf die schwankenden Ergebnisse der passiven Anaphylaxie gegen Hammelerythrocyten beziehen. Daß der hämolytische, mit dem anaphylaktischen Antikörper identische Amboceptor im Meerscheinchen zwar nicht so stark und rasch verschwindet wie derjenige der Organantisera, in 24 Stunden aber total aus der Blutbahn eliminiert sein kann, zeigt folgender Versuch:

Meerschweinchen 1 erhält 2,2 ccm Hammelblutimmunserum von Kaninchen 888 intraperitoneal; wird nach 4 Stunden entblutet. Sein Serum enthält in 0,08 ccm noch eine komplett lösende Amboceptordosis.

Meerschweinchen 2 (halb so schwer wie Nr. 1) bekommt 1,0 ccm desselben Serums intraperitoneal. Nach 24 Stunden entblutet. Im Serum keine Spur von lytischem Amboceptor.

Schlußfolgerungen[1]).

1. Die Organe des Pferdes, Meerschweinchens, des Hundes, der Katze, des Huhnes (und der Schildkröte) enthalten ein in biologischer Beziehung identisches Antigen. Dasselbe kommt in geringer Menge auch im Blutplasma (Serum) der genannten Tierspezies sowie im Harne vor, fehlt dagegen in den Erythrocyten meist gänzlich.

2. Dieses Antigen existiert auch in den Erythrocyten des Hammels und der Ziege; in den Organen derselben ist es nicht nachweisbar.

3. Beim Rind, Kaninchen, Ratte, Schwein, Mensch, Gans, Maus und Taube fehlt das bezeichnete Antigen sowohl in den Erythrocyten, als auch in den Organgeweben.

4. Das Antigen bewirkt im Kaninchen die Entstehung von lytischen Amboceptoren für Hammelerythrocyten und eines Antikörpers, der bei intravenöser Injektion auf Meerschweinchen, Hunde, Hühner (wahrscheinlich auch auf Katzen und Pferde) als Noxe wirkt. Ob die Hammelblutamboceptoren mit

[1]) Wie weit die hier präzisierten Sätze von Forssman und Hintze, sowie von Dschewad Orudschiew erkannt wurden, ergibt sich aus der Einleitung.

dem toxischen Antikörper identisch sind, läßt sich zurzeit nicht mit Sicherheit behaupten; doch werden beide in vitro durch das Antigen (Organe der sub 1. aufgezählten Tiere oder Hammelerythrocyten) meist gleichzeitig gebunden.

5. Die pathogene Wirkung der Organantisera und Hammelblutimmunsera ist als Anaphylaxie aufzufassen; das Antigen stellen die Organe des vergiftbaren Tieres dar, den Antikörper enthalten die Immunsera. Die Reaktion vollzieht sich ohne Intervention des Komplementes.

6. Die sub 3. bezeichneten Tierspezies werden durch solche Sera nicht geschädigt.

7. Das Antigen ist gegen eiweißkoagulierende Agenzien (Erhitzen, absoluten Alkohol) widerstandsfähig.

8. Tumorzellen können graduell von den Geweben des Tumorträgers abweichen.

9. Bei Tieren (Meerschweinchen), deren Gewebe das Antigen enthalten, löst dasselbe keine Antikörperproduktion (Bildung der lytischen Amboceptoren oder toxischen Immunstoffe) aus.

10. Meerschweinchen lassen sich mit Pferdenierenantiserum weder gegen Pferdeniere noch gegen Hammelerythrocyten passiv anaphylaktisch machen, da die Antikörper des präventiv injizierten Serums sofort aus dem Organismus (durch Bindung an das Organantigen) verschwinden. Erzeugt man passive Anaphylaxie gegen Hammelerythrocyten durch ein Hammelblutimmunserum, so können in manchen Fällen ähnliche Verhältnisse eintreten, da der anaphylaktische Antikörper (Amboceptor) solcher Sera von Meerschweinchenorganen in vivo und in vitro in wechselndem Grade gebunden wird.

Über Plasteinbildung.

I. Mitteilung.

Von

P. Glagolew.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium der medizinischen Hochschule für Frauen zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 24. Februar 1913.)

Über die Frage der Plasteinbildung liegt bekanntlich eine reichhaltige Literatur vor. Seitdem im Jahre 1886 von A. Danilewski die Tatsache festgestellt worden ist, daß unter Einwirkung von Labferment sich Produkte bilden, die in vielen Hinsichten Eiweißstoffen ähnlich sind, haben sich viele Forscher mit Untersuchung der Entstehungsbedingungen und der chemischen Natur der Plasteine beschäftigt.

Es ist erwiesen worden, daß nicht nur das Labferment der Tiere[1]), sondern auch der Magensaft von Hunden[2]) und Menschen[3]), der Pankreassaft[4]), sowie viele Fermente pflanzlicher Herkunft[5]) die Eigenschaft besitzen, unter gewissen Bedingungen Plasteine zu bilden; ferner ist gezeigt worden, daß viele Gewebe und Organe[6]) dieselbe Eigenschaft besitzen; die letztere wird auch einigen Bakterien[7]) zugeschrieben.

---

[1]) Okunew, Dissert. 1895 (russ.). — Lawrow, Dissert. 1896 (russ.). — Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. — Sawjalow, Dissert. Jurjew 1899. — Arch. f. d. ges. Physiol. **85**.

[2]) Nencki und Sieber, Zeitschr. f. physiol. Chem. **26**. — Lawrow und Salaskin, Zeitschr. f. physiol. Chem. **36**.

[3]) Tedeschi, Biochem. Centralbl. **3**, 119 (Ref.). — Allaria, Malys Jahresber. **37**, 430 (Ref.).

[4]) Okunew, Wratsch. **1900**, 662 (russ.). — Delezene und Mouton, Compt. rend. Soc. Biol. **63**, 277.

[5]) Kurajew, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **1**, **2**, **3** (1901 bis 1903). — Sacharow, Wratsch. **1902** (russ.). — Gerber, Compt. rend. Soc. Biol. **66**, 1122; **67**, 277.

[6]) Okunew, Verhandl. russ. Ärzte **1901**, 310. — Nürnberg, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 543.

[7]) Kämmerer, Biochem. Centralbl. **12**, 539, 1911.

Trotzdem bleibt bis heute sowohl die biologische Bedeutung der Plasteinbildung, als auch ihre chemische Natur unklar. Die Mehrzahl der Forscher ist auf Grund des Studiums der allgemeinen Reaktionen der Plasteine und Eiweißkörper, sowie des Vergleiches ihrer Aussalzbarkeit geneigt, die Plasteinbildung als einen Regenerativprozeß anzusehen, wobei die einen Plastein als neugebildetes Eiweiß ansehen, die anderen als dem Eiweiß sich nähernde Stoffe, die dritten als besondersartige Albumosen, die durch Erepsin (ein Ferment, das bekanntlich auf die meisten nativen Eiweißkörper nicht einwirkt) gespalten werden.

Vor kurzem haben Henriques und Gjaldbäck[1]), ausgehend von der Theorie von E. Fischer und unter Benutzung der Methodik von Sörensen, den direkten Beweis erbracht, daß die Plasteinbildung durch Einwirkung von Pepsinsalzsäure einen regenerativen Prozeß vorstellt, da eine Abnahme der vorhandenen Aminogruppen stattfindet. Hierbei wurde von ihnen gefunden, daß die Plasteinbildung unter Einwirkung von Pepsin in weiten Temperaturgrenzen, zwischen 5° und 70°, vor sich geht. Die Untersuchungen von Henriques und Gjaldbäck haben eine große Bedeutung, nicht nur weil dank denselben das Studium der Plasteinbildung in eine neue Entwicklungsphase tritt, nämlich ins Gebiet des rein chemischen Studiums dieses Prozesses, sondern auch weil die Ergebnisse ihrer Forschungen viele andere angrenzende und mit diesem Vorgang in direktem Zusammenhang stehende Fragen auf die Tagesordnung bringen.

Abgesehen von der von einigen Autoren[2]) geäußerten Bezweifelung über den fermentativen Charakter der Plasteinbildung steht die Meinung der übrigen im gegebenen Falle direkt mit ihren Ansichten über die Fermente des Magensaftes im Zusammenhang. Hammarsten[3]) gibt die Möglichkeit der Existenz eines besonderen plasteinisierenden Fermentes im Magensaft zu; J. Pawlow[4]) geht im gegebenen Falle von der Ansicht aus, daß Pepsin und Chymosin identisch sind; dieselbe Ansicht wird von M. Lawrow und Salaskin[5]) vertreten; Herzog[6]) schreibt auf Grund seiner Versuche die Plasteinbildung nicht dem Labferment, sondern einem proteolytischen Ferment zu. In Ergänzung dieser Zitate wären noch die älteren Untersuchungen von Hofmeister[7]) und Danilewski[8]) zu erwähnen, die die Umwandlung der Peptone in Eiweiß durch bloße Erhitzung auf hohe Temperatur beweisen.

---

[1]) Henriques und Gjaldbäck, Zeitschr. f. physiol. Chem. **71**, 485, 1911; **81**, 439, 1912.

[2]) Oppenheimer, Die Fermente. 1909. Spez. T. S. 285. — Fuld, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **2**, 169, 1902.

[3]) Hammarsten, Lehrb. f. physiol. Chem. 7. Aufl. 1910. S. 448.

[4]) J. Pawlow und Parastschuk, Zeitschr. f. physiol. Chem. **42**, 415.

[5]) l. c.

[6]) Herzog, Zeitschr. f. physiol. Chem. **39**, 305.

[7]) Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **19** u. **20**.

[8]) Danilewski, Journ. d. russ. physikal.-chem. Gesellsch. **1879**.

Alle diese Tatsachen zeigen, daß die Bedingungen der Plasteinbildung noch eine sorgfältige Spezialuntersuchung erfordern.

Es wäre von Interesse: 1. vollständige und deutliche Beweise für den Fermentativcharakter des gegebenen Prozesses zu erbringen, 2. die Wirkung der verschiedenen an der Plasteinbildung beteiligten Fermente zu studieren, 3. festzustellen, ob und unter welchen Bedingungen der gegebene Prozeß geändert wird und ob er wirklich umkehrbar ist, wie Henriques und Gjaldbäck[1]) annehmen.

In unserer vorliegenden Untersuchung haben wir auf Anregung von Prof. Slowtzoff hauptsächlich die plasteinisierende Wirkung des Labfermentes (genauer ausgedrückt: eines künstlichen Produktes, das energisch Milch koaguliert und eine geringfügige proteolytische Wirkung ausübt — Labpulver Witte) untersucht; ein Teil der Versuche war mit natürlichem Magensaft und Papayotin angestellt. Wir haben die konzentrierten Lösungen von Albumosen + Peptonen aus Fleisch und käuflichem Witte-Pepton, die genau gegen Lackmus neutralisiert wurden, plasteinisiert. Die Fermentmenge, die Reaktion des Mediums, die Konzentration der Lösungen, die Temperaturbedingungen wurden mehrfach variiert.

In der Bestimmungsmethode nach Sörensen haben wir eine kleine Abänderung eintreten lassen, indem zur Vermeidung des Fehlers der vorläufigen Neutralisation gegen Lackmus die titrierende Flüssigkeit direkt genau gegen Phenolphthalein neutralisiert wurde; der Versuch hat uns gezeigt, daß wir hierbei genauere relative Größen erhalten, die miteinander gut vergleichbar sind; außerdem haben wir nach dem Zusatz von Formol mit $^{n}/_{5}$-KHO bis zum stark roten, als auch bis zum schwach rosa Farbton titriert; in einigen Fällen wurde die Titration auch in Stadien durchgeführt. Das Labpulver wurde mit Wasser unter Zusatz einiger Tropfen NaCl bei 24 stündigem Stehenlassen im Thermostaten extrahiert. Die Kontrollversuche sind mit gekochter, nicht abfiltrierter Lablösung angestellt, oder wir haben die bei längerem Stehen im Thermostaten erhaltenen Resultate mit den Ergebnissen, die sich unter den entsprechenden Bedingungen bei direktem Zusatz von natürlichem Ferment ergaben, verglichen. Alle Resultate sind in Tabelle I zusammengestellt.

---

[1]) l. c.

Tabelle I.

Zerkleinertes und sorgfältig mit Wasser ausgewaschenes Fleisch wurde der Verdauung durch Pepsin unterworfen; nach Entfernung des Acidalbumins wurde die Flüssigkeit auf dem Bade bis zu schwacher Sirupkonsistenz eingeengt, mit KHO gegen Lackmus neutralisiert und filtriert. Bei a) wurde die Kontrolle mit gekochter Lablösung, bei b) und c) mit Lösungen natürlichen Labs ausgeführt. 1 ccm titriertes KHO = 3 mg $N(NH_2)$.

Nr.	Versuchsflüssigkeit	Zum Versuch benutzte Menge	N in 20 ccm	Zusatz an $^n/_1$-HCl	Lab-menge	Dauer im Thermostaten	Bestimmungen n. Sörensen: Anzahl d. verbraucht. ccm KHO bei Titrieren bis zu Farbton: blaß-rosa	stark rosa	$N(NH_2)$: laut Titration	in % d. Ges.-stickstoffes	Umwandlung in %: des Gesamtstickstoffes	bei Titration
I. 1.	Fleisch mittels Grüblers Pepsin verdaut im Laufe von 3 Tagen	20 ccm	0,4700	—	—	—	12,65	—	0,0369	7,08	—	—
2. a)		20 „	0,4700	2,8 ccm	4,0 ccm	20 Std.	12,70	—	0,0381	8,23	—	—
b)		20 „	0,4700	2,8 „	4,0 „	20 „	11,80	—	0,0354	7,53	−0,70	−7,1
c)		20 „	0,4700	2,8 „	4,0 „	40 „	12,10	—	0,0363	7,72	−0,51	−4,7
3. a)		20 „	0,4700	2,8 „	8,0 „	25 „	12,80	—	0,0384	8,17	+0,60	+1,8
b)		20 „	0,4700	2,8 „	8,0 „		13,00	—	0,0390	8,51		
II. 1.	Fleisch mittels Grüblers Pepsin verdaut im Laufe von 4 Tagen	20 „	0,5562	1,5 „	ohne Zus.	sofort	12,42	—	0,0373	6,70	—	—
2.		20 „	0,5562	1,5 „	2,0 ccm	sofort	12,25	—	0,0368	6,61	—	—
3. a)		20 „	0,5562	1,0 „	2,0 „	20 Std.	12,20	—	0,0366	6,58	−0,38	−5,4
b)		20 „	0,5562	1,0 „	2,0 „		11,52	—	0,0346	6,20		
4. a)		20 „	0,5562	1,5 „	2,0 „	20 „	12,10	—	0,0363	6,53	−0,22	−3,31
b)		20 „	0,5562	1,5 „	2,0 „		11,70	—	0,0357	6,31		
c)		20 „	0,5562	1,5 „	2,0 „	40 „	11,40	—	0,0342	6,15	−0,38	−6,56
5. a)		20 „	0,5562	1,5 „	4,0 „	20 „	12,15	—	0,0365	6,56	−0,29	−4,38
b)		20 „	0,5562	1,5 „	4,0 „		11,62	—	0,0349	6,27		

Tabelle I (Fortsetzung).

Nr.	Versuchsflüssigkeit	Zum Versuch benutzte Menge	N in 20 ccm	Zusatz an $^{n}/_{1}$-HCl	Lab-menge	Dauer im Thermostaten	Bestimmungen n. Sörensen: Anzahl d. verbraucht. ccm KHO bei Titrieren bis zu blaß-rosa Farbton	Bestimmungen n. Sörensen: Anzahl d. verbraucht. ccm KHO bei Titrieren bis zu stark rosa Farbton	N(NH_2) laut Titration	N(NH_2) in % d. Ges.-Stickstoffes	Umwandlung in % des Gesamtstickstoffes	Umwandlung in % bei Titration
II. 6. a)	Fleisch mittels Grüblers Pepsin verdaut im Laufe von 4 Tagen	20 ccm	0,5562	1,5 ccm	6,0 ccm	20 Std.	12,10	—	0,0363	6,53	-0,33	-5,06
b)		20 „	0,5562	1,5 „	6,0 „		11,50	—	0,0345	6,20		
c)		20 „	0,5562	1,5 „	6,0 „	40 „	11,50	—	0,0345	6,20		
7. a)		20 „	0,5562	3,0 „	2,0 „	20 „	14,10	—	0,0423	7,78	±0	±0
b)		+50 ccm H_2O	0,5562	3,0 „	2,0 „		14,05	—	0,0421	7,77		
III. 1.	Fleisch mittels Pepsino germanico verdaut im Laufe von 3 Tagen	20 ccm	0,7600	1,0 „	ohne Zus.	sofort	—	16,60	0,0498	6,55	—	—
2. a)		20 „	0,7600	1,0 „	2,0 ccm	20 Std.	—	16,40	0,0492	6,47	-0,67	-10,3
b)		20 „	0,7600	1,0 „	2,0 „		—	14,70	0,0441	5,80		
3. a)		20 „	0,7600	1,0 „	3 Tropfen	20 „	—	15,70	0,0471	6,20	-0,32	-5,1
b)		20 „	0,7600	1,0 „	3 „		—	14,90	0,0447	5,88		
4. a)		20 „	0,7600	2,0 „	6,0 ccm	20 „	—	16,10	0,0483	6,38	-0,09	-2,0
b)		20 „	0,7600	2,0 „	6,0 „		—	15,80	0,0474	6,29		
IV. 1. a)	Fleisch mittels Pepsino germanico verdaut im Laufe von 4 Tagen	20 „	0,3320	0,5 „	2,0 „	20 „	—	7,95	0,0239	7,20	-0,73	-10,4
b)		20 „	0,3320	0,5 „	2,0 „		—	7,15	0,0215	6,47		
2. a)		20 „	0,3320	0,5 „	5,0 „	sofort	—	7,80	0,0234	7,05	—	—
b)		20 „	0,3320	0,5 „	5,0 „	Zimmertemp.	—	7,60	0,0228	6,86	-0,19	-2,6
c)		20 „	0,3320	ohne Zus.	5,0 „ neutr.	20 Std. im Thermost.	—	7,90	0,0237	7,10	+0,05	+1,3

Nun gehen wir zu unseren Versuchen über.

Betrachtet man die Untersuchungen mit Verdauungsprodukten von Fleisch vermittels Pepsin-Salzsäure, so erweist sich, daß bei allen Versuchen die regenerierende Wirkung, die sich durch die Abnahme der NH_2-Gruppen ermessen läßt, von Lablösungen zutage tritt, jedoch ist die prozentuale Umwandlung unter verschiedenen Bedingungen verschieden und schwankt von — 0 bis — 10,3; in einzelnen Fällen finden wir umgekehrt eine proteolytische Wirkung.

So wurde in Versuch 1 (Tabelle I) bei bestimmter Acidität eine Umwandlung in Richtung minus beobachtet, die aber bei weiterem Stehen im Thermostaten zurückgeht. Wurde jedoch bei Einwirkung derselben Acidität eine bedeutend größere Fermentmenge zugesetzt, so trat Proteolyse ein.

	$^n/_1$-HCl ccm	Lablösung ccm	Verweilen im Thermostaten Std.	Umwandlung %
1	2,8	4,0	20	— 7,1
2	2,8	4,0	40	— 4,7
3	2,8	8,0	25	+ 1,8

Im Versuch 2 ist die Beziehung zwischen der benutzten Fermentmenge, der Acidität und der Dauer des Verweilens im Thermostaten deutlich zu sehen; so erhalten wir bei Zusatz von 2 ccm Lab + 1,5 ccm HCl bei gleicher Dauer des Stehens im Thermostaten einen geringeren Regenerationseffekt als bei Zusatz von 2 ccm Lab + 1,0 ccm HCl: die regenerierende Wirkung steigt jedoch bei weiterem Verweilen im Thermostaten an:

	$^n/_1$-HCl ccm	Lablös. ccm	Verweilen im Thermostaten Std.	Umwandlung %
1	1,0	2,0	20	— 5,40
2	1,5	2,0	20	— 3,31
3	1,5	2,0	40	— 6,56

Vergleichen wir die Resultate, die bei gleichbleibender Acidität bei Verwendung ansteigender Labmengen erhalten werden, so sehen wir, daß die Anwendung der dreifachen Fermentmenge eine bedeutend größere Regenerationswirkung nach sich zieht:

	n/1-HCl ccm	Lablös. ccm	Verweilen im Thermostaten Std.	Umwandlung %
1	1,5	2	20	— 3,10
2	1,5	4	20	— 4,38
3	1,5	6	20	— 5,06

die aber doch hinter der Wirkung, die bei Verwendung von geringeren Lab- und Salzsäuremengen erhalten wurde, zurückblieb.

	n/1-HCl ccm	Lablös. ccm	Verweilen im Thermostaten Std.	Umwandlung %
1	1,5	6	20	— 5,06
2	1,0	2	20	— 5,40

Wird die Ausgangsflüssigkeit vor dem Versuch mit $3^1/_2$ Vol. Wasser verdünnt, so erhalten wir keine Umwandlung weder in der +-, noch in der —-Richtung (Tabelle I, Versuch II, 7).

Die Beziehung zwischen den Mengen des Labs und der hinzugeleiteten HCl tritt noch deutlicher im Versuch 3 zutage.

Es erweist sich, daß ein Zusatz von 6 ccm Lab + 2 ccm HCl eine fünfmal geringere Regenerationswirkung ausübt, als der Zusatz von 2 ccm Lab + 1 ccm HCl, und eine zweimal geringere Regenerationswirkung, als der Zusatz von 1 ccm HCl + geringfügige Labmengen.

	n/1-HCl ccm	Lablös.	Verweilen im Thermostaten Std.	Umwandlung %
1	1,0	2,0 ccm	20	— 10,3
2	1,0	3 Tropfen	20	— 5,1
3	2,0	6,0 ccm	20	— 2,1

Im Versuch 4 haben wir den Einfluß des Salzsäurezusatzes auf den Regenerationsprozeß geprüft; zu diesem Zwecke wurde die Verdauungsflüssigkeit der Einwirkung von Lab sowohl bei geringem Säurezusatz als auch bei neutraler Reaktion ausgesetzt; es erwies sich, daß in saurer Lösung die plasteinisierende Wirkung von Lab sogar bei Zimmertemperatur erkennbar ist, während in neutraler Lösung keinerlei plasteinisierende Wirkung eintritt.

	n/1-HCl ccm	Lab ccm	Temperatur Grad	Umwandlung %
1	0,5	2	37	— 10,4
2	0,5	5	16	— 2,6
3	neutral	5	37	+ 1,3

Nun gehen wir zur Beschreibung der Versuche mit Witte-Pepton über.

Wie in den vorstehend beschriebenen Versuchen mit Fleischverdauungsprodukten, so haben wir auch hier den Einfluß der Salzsäure- und Labmengen, sowie der Konzentrationen der Versuchsflüssigkeit geprüft.

So sehen wir in Versuch 1 mit einer sehr konzentrierten Peptonlösung Umwandlungen, die je nach den Versuchsbedingungen zwischen ± 0 und — 7,0% schwanken. Die maximale Umwandlung (— 7,0%) wurde beim Zusatz von 1,5 ccm HCl + 2 ccm Lab erhalten; wurde beim gleichen Labgehalt die Acidität bedeutend gesteigert, so bleibt die Regenerationswirkung aus. Wurde jedoch zu der mit 1,5 ccm HCl versetzten Ausgangslösung nur eine geringe Labmenge zugesetzt, so ergibt sich eine beträchtliche Regenerationswirkung. Selbst wenn die Peptonlösung mit $3\frac{1}{2}$ Volumen Wasser verdünnt wird und so viel HCl hinzugegeben wird, daß die ursprüngliche Acidität wiederhergestellt ist, so ist eine, wenn auch geringe Regeneration noch deutlich nachweisbar.

	n/1-HCl ccm	Labmenge	Verweilen im Thermostaten	Umwandlung %
1	1,5	2 ccm	15 Std.	— 7,0
2	5,0	2 „	15 „	± 0
3	1,5	3 Tropfen	4 Tage	— 3,4
4 Verdünung mit Wasser	5,0	4 ccm	15 Std.	— 1,5

Auch im Versuch 2, ebenfalls mit sehr konzentrierter Peptonlösung angestellt, sehen wir bei Verwendung geringerer Lab- und Salzsäuremengen ausgesprochene Regenerationswirkung (Tabelle II, Versuch 2).

Versuch 3 ist mit Pepton von bedeutend geringerer Konzentration (eine etwa 12%ige Lösung) angestellt. Bot es Schwierigkeiten, in konzentrierten Lösungen der Fleischverdauungsprodukte und käuflichem Pepton die Fähigkeit der Lab-

Tabelle II.

Versuche mit konzentrierten, gegen Lackmus neutralisierten Peptonlösungen.

Bei a) Kontrollversuche. KHO = 3 mg $N(NH_2)$.

Nr.	Zum Versuch benutzte Menge	N in 20 ccm	Zusatz an $^n/_1$-HCl	Labmenge	Dauer des Verweilens im Thermostaten	Bestimmungen nach Sörensen: Anzahl der verbrauchten ccm KHO bei Titration bis zu Farbton: blaß rosa	stark rot	$N(NH_2)$ laut Titration	$N(NH_2)$ in % des Gesamtstickstoffs	Umwandlung in %: des Gesamtstickstoffs	bei Titration
I. 1. a)	20 ccm	0,9400	1,5 ccm	2,0 ccm	15 Std.	17,80	—	0,0534	5,60	−0,40	−7,0
b)	20 „	0,9400	1,5 „	2,0 „		16,50	—	0,0495	5,20		
2. a)	20 „	0,9400	1,5 „	3 Tropfen	4 Tage	17,80	—	0,0534	5,60	−0,18	−3,4
b)	20 „	0,9400	1,5 „	3 „		17,20	—	0,0510	5,42		
3. a)	20 ccm +	0,9400	5,0 „	4,0 ccm	15 Std.	19,0	—	0,0570	6,06	−0,11	−1,5
b)	50 ccm H_2O	0,9400	5,0 „	4,0 „		18,7	—	0,0561	5,95		
4. a)	20 ccm	0,9400	5,0 „	2,0 „	15 „	18,90	—	0,0567	6,0	±0	±0
b)	20 „	0,9400	5,0 „	2,0 „		18,85	—	0,0566			
II. 1. a)	20 „	0,8000	2,0 „	2,0 „	20 „	—	20,6	0,0618	7,7	−0,6	−7,8
b)	20 „	0,8000	2,0 „	2,0 „		—	19,0	0,0570	7,1		
III. 1. a)	20 „	0,4160	0,5 „	0,5 „	20 „	—	9,70	0,0291	7,04	−0,12	−1,04
b)	20 „	0,4160	0,5 „	0,5 „		—	9,60	0,0288	6,92		
2. a)	20 „	0,4160	0,5 „	5,0 „		—	10,0	0,0300	7,28	±0	±0
b)	20 „	0,4160	0,5 „	5,0 „		—	10,0				
3. a)	20 „	0,4160	2,0 „	0,5 „		—	9,85	0,0296	7,17	+1,6	+2,3
b)	20 „	0,4160	2,0 „	0,5 „		—	10,10	0,0303	7,33		
4. a)	20 „	0,4160	5,0 „	0,5 „		—	10,80	0,0324	7,83	+0,07	+0,9
b)	20 „	0,4160	5,0 „	0,5 „		—	10,90	0,0327	7,91		
5. a)	20 „	0,4160	5,0 „	5,0 „		—	11,35	0,0310	7,52	+0,91	+11,1
b)	20 „	0,4160	5,0 „	5,0 „		—	11,70	0,0351	8,43		

lösung unter gewissen Bedingungen proteolytisch zu wirken aufzudecken, so war es im gegebenen Falle umgekehrt recht schwer, eine regenerierende Fähigkeit des Labs nachzuweisen.

Nur bei Zusatz geringer Mengen der Lablösung und bei geringer Acidität ergibt sich eine regenerierende Wirkung.

Der Umschlag von der Regenerationswirkung des Labs zur proteolytischen kann auf zweierlei Art zustande kommen: entweder durch Steigerung der Acidität oder durch Vergrößerung des Fermentzusatzes:

	$^n/_1$-HCl ccm	Lab ccm	Umwandlung %
1	0,5	0,5	− 1,04
2	0,5	5,0	± 0
3	5,0	0,5	+ 0,9
4	5,0	5,0	+ 11,0

Betrachten wir nun die Resultate bei Anwendung von natürlichem Magensaft, so beobachten wir auch hier je nach den Bedingungen verschiedene Wirkungen. So erhalten wir bei den Versuchen mit sehr konzentrierter Peptonlösung eine bedeutende Regeneration beim Zusatz von 2 ccm HCl + 5 ccm Magensaft, eine bedeutend geringere beim Zusatz kleinerer Mengen Magensaft ohne HCl-Zusatz, und gar keine Regeneration bei Zufügung neutralisierten Magensaftes.

	$^n/_1$-HCl ccm	Magensaft ccm	Umwandlung %
1	2,0	5,0	− 6,7
2	—	0,6	− 3,8
3	—	0,6 neutr.	+ 0,1

Dieselbe Wirkung der Neutralisation beobachten wir auch beim Behandeln von konzentrierten Produkten der peptischen Fleischverdauung mit Magensaft; der Zusatz von relativ größeren Mengen Magensaft selbst zu ein wenig konzentrierteren Verdauungsprodukten mit bedeutend höherer Acidität ruft jedoch keine Plasteinbildung, sondern Proteolyse hervor.

	N %	Lab ccm	Magensaft ccm	Umwandlung %
1	1,67	—	0,6	− 2,4
2	—	—	0,6 neutr.	+ 0,1
3	2,35	2,8	2,0	+ 1,2

Tabelle III.

Versuche mit natürlichem Magensaft.

Bei a) Kontrollversuche. KHO = 3 mg $N(NH_2)$.

Nr.	Versuchsflüssigkeit	Zum Versuch benutzte Menge ccm	N in 20 ccm	Zusatz an $^n/_1$-HCl	Magensaftmenge ccm	Dauer des Verweilens im Thermostaten	Bestimmungen n. Sörensen: Anzahl d. verbraucht. ccm KHO bei Titration bis zu blaßrosa Färbungen	Bestimmungen n. Sörensen: Anzahl d. verbraucht. ccm KHO bei Titration bis zu stark rot Färbungen	Bestimmungen n. Sörensen: $N(NH_2)$ laut Titration	Bestimmungen n. Sörensen: $N(NH_2)$ in $^0/_0$ d. Ges.-Stickstoffes	Umwandlung in $^0/_0$ des Gesamt-Stickstoffes	Umwandlung in $^0/_0$ bei Titration
I. 1. a)	Konzentrierte Peptonlösung	20	0,8000	—	0,6		—	18,3	0,0549	6,87	+ 0,03	+ 0,54
b)		—	—	—	0,6 neutral.	20 Std.	—	18,4	0,0552	6,90	— 0,27	— 3,8
c)		20	0,8000	—	0,6		—	17,6	0,0528	6,60		
2. a)		20	0,8000	2,0	5,0	20 „	—	17,9	0,0537	—	—	— 6,7
b)		20	0,8000	2,0	5,0		—	16,7	0,0501	—		
II. 1. a)	Konzentrierte Fleischverdauungsprodukte des Versuchs 4 (Tabelle I)	20	0,3320	—	0,6		—	6,8	0,0204	6,04	— 0,08	— 2,4
b)		20	0,3320	—	0,6	20 „	—	6,6	0,0198	5,96	+ 0,22	+ 0,1
c)		20	0,3320	—	0,6 neutral.		—	6,9	0,0207	6,26		
III. 1. a)	Konzentrierte Fleischverdauungsprodukte des Versuchs 1 (Tabelle I)	20	0,4700	2,80	2,0	20 „	11,40	—	0,0342	7,28	+ 0,12	+ 1,2
b)		20	0,4700	2,80	2,0		11,60	—	0,0348	7,40		

Es müssen noch die Versuche mit Papayotin Erwähnung finden. Es ist uns nicht gelungen, eine bedeutende Umwandlung der nach Sörensen zu titrierenden Aminogruppen zu erhalten, obgleich das Plasteinisieren äußerlich sehr ähnlich, wie bei Behandlung mit Lab resp. Magensaft, verlief.

So erhalten wir bei Zusatz einer bestimmten Menge Papayotin zu einer konzentrierten Peptonlösung, die mit Lab bis — 7,8 % und mit Magensaft bis — 6,8 % Umwandlung ergab, bloß eine Umwandlung von — 2,2 %.

Es bot jedoch keine Schwierigkeiten, die amphotere Wirkung des Papayotins (von Merck) zu erweisen. So ergab sich im Versuche Nr. 1 mit einer konzentrierten Lösung von Fleischverdauungsprodukten beim Zusatz geringer Papayotinmengen in gegen Lackmus neutraler Lösung eine re-

Tabelle IV.
Versuche mit Papayotin.
Bei a) Kontrollversuche. KHO = 3 mg NH_3.

Nr.	Versuchsflüssigkeit	Zum Versuch benutzte Menge ccm	N in 20 ccm	Papayotinlösungsmenge ccm	Dauer des Verweilens im Thermostaten	Bestimmungen nach Sörensen: Anzahl der verbrauchten ccm KHO bei Titration bis zu starkrotem Farbton	Bestimmungen nach Sörensen: $N(NH_2)$ laut Titration	Bestimmungen nach Sörensen: $N(NH_2)$ in % des Gesamtstickstoffs	Umwandlung in %: des Gesamtstickstoffs	Umwandlung in %: bei Titration
I. 1. a)	Konzentrierte Fleischverdauungsprodukte des Versuchs 4 (Tab. I)	20	0,3320	2,0	20 Std.	7,3	0,0231	7,00	+ 0,42	+ 7,3
b)		20	0,3320	2,0		8,3	0,0249	7,42		
2. a)		20	0,3320	0,6	20 „	7,0	0,0210	6,32	— 0,18	— 2,9
b)		20	0,3320	0,6		6,8	0,0204	6,14		
II. a)	Konzentrierte Peptonlösung des Versuchs 2 (Tab. II)	20	0,8000	0,6	20 „	17,5	0,0525	6,56	— 0,14	— 2,3
b)		20	0,8000	0,6		17,1	0,0513	6,41		

generierende, beim Zusatz bedeutend größerer Mengen jedoch eine bedeutende proteolytische Wirkung.

	Versuchsflüssigkeit	Papayotinlös. ccm	Umwandlung %
1	Fleischverdauungsprodukte	0,6 2,0	− 2,9 + 7,3
2	Witte-Pepton	0,6	− 2,2

Indem wir hier mit der Beschreibung der erhaltenen Resultate abschließen, erachten wir es für notwendig, einige Versuche zu erwähnen, bei denen in Stadien titriert wurde.

Schon der Vergleich der Resultate der Titrationen bis zu rosa und stark rotem Farbton (s. Tabellen) bot uns in gewissem Grade einen Hinweis auf eine kurze 4. Phase; beim Titrieren im 2., 3 und 4. Stadium nach der von Henriques[1]) ausgearbeiteten Methodik wurde dieses in der Tat bestätigt.

Als Beispiel führen wir die Titrationsresultate an, die mit Fleischverdauungsprodukten erhalten wurden.

	Fleischverdauungsprodukte	Bei direktem Titrieren bis zum stark roten Farbton	In Stadien		
			2	3	4
1	S. Tabelle I, Versuch III, 2. a)	16,4	3,60	11,40	1,40
	b)	14,7	3,00	10,70	1,10
2	S. Tabelle I, Versuch IV, 1. a)	7,95	1,75	5,15	2,82
	b)	7,15	1,75	4,55	2,52

Trotzdem scheint nicht das 3., sondern das 4. Stadium die größere relative prozentuale Umwandlung zu ergeben.

Beim Vergleich des Ziffernmaterials sieht man (s. Tabellen), daß es abhängig ist von der hinzugesetzten Fermentmenge, der Acidität resp. Alkalität und der Verdünnung. Diese Unterschiede hängen zweifellos nicht nur von der Konzentration der kolloidalen Stoffe, sondern auch von der Konzentration der H-Ionen ab. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, die Re-

[1]) Henriques und Sörensen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 1909. — Henriques und Gjaldbäck, ebenda 75, 1911.

sultate jedes einzelnen Versuches mit der Kontrolle zu vergleichen.

Aus diesem Grunde dürften in der Arbeit von Henriques und Gjaldbäck Resultate, die sie bei einer Konzentration der Untersuchungsflüssigkeit erhalten hatten, mit Resultaten, die beim Verdünnen der letzteren mit Wasser sich ergaben, nicht ohne weiteres vergleichbar sein.

Alles Dargelegte bietet die Möglichkeit, folgende Schlüsse zu ziehen:

1. Die Plasteinbildung stellt eine fermentative Erscheinung vor, da sie in Gegenwart geringfügiger Mengen der verdauenden Flüssigkeit vor sich gehen kann, zum Eintritt des bestimmten Effektes eine bestimmte Reaktion des Mediums erforderlich ist, und der Prozeß bei Einwirkung von verdauender Flüssigkeit, die vorher gekocht ist, nicht eintritt.

2. Die Plasteinbildung bei Einwirkung von Lösungen des Labpulvers Witte, natürlichem Magensaft und Papayotin stellt einen Generativprozeß vor, insofern als er von einer Verringerung der Menge der nach Sörensen zu titrierenden freien Aminogruppe begleitet ist.

3. Die Plasteinbildung ist eine umkehrbare Reaktion, die vom Verhältnis zwischen Fermentmenge, Konzentration und Reaktion des Mediums abhängt. Die Reversibilität dieser fermentativen Wirkung läßt sich sogar in sehr konzentrierten, bis zur Sirupkonsistenz eingeengten Versuchsflüssigkeiten nachweisen.

Zur Frage der Spezifizität der Immunreaktionen und ihrer kolloidchemischen Erklärbarkeit.

Von

K. Landsteiner.

(Eingegangen am 1. März 1913.)

In einer in dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit kommen Michaelis und Davidsohn[1]) zu dem Schlusse, daß das Wesen der Spezifität durch die kolloidchemische und insbesondere die elektrochemische Betrachtung der Immunreaktionen nicht erklärbar sei.

Da die Ansicht, daß die kolloiden Immunstoffe elektrochemisch reagieren von mir stammt[2]), und ich auch die Meinung geäußert habe, daß diese Annahme zur Aufklärung des Spezifizitätsproblems führen könne, bin ich veranlaßt, auf die Einwände von M. und D. kurz einzugehen, ohne übrigens meine früheren Argumente hier wieder anzuführen. Allerdings hat schon Wolfg. Ostwald[3]) gegen das Urteil von M. und D. Widerspruch erhoben und namentlich betont, daß der von M. und D. benützte Begriff „spezifischer chemischer Affinitäten" keinen bestimmten Inhalt hat[4]), aber ich möchte insofern

---

[1]) Diese Zeitschr. **47**, 59, 1912.

[2]) Münch. med. Wochenschr. **1904**, Nr. 27. — Centralbl. f. Bakt. **39**, 83, 309; **40**, 265; **41**, 108; **42**, 353, 562. — Zeitschr. f. Hygiene **58**. — Zeitschr. f. Immunitätsf. **9**, 779. — Wiener klin. Wochenschr. **1909**, Nr. **47**. — Zeitschr. f. Chem. d. Koll. **3**, H. 5, 1908. — Oppenheimer, Handb. d. Biochem. **2**, 395. — Vgl. Pauli, Handb. d. Pathol. Wien, Perles, 1905; Billitzer, Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. Wien **1904**; Pick, Biochemie d. Antigene. Jena, Fischer, 1912; Porges, Handb. d. Techn. u. Meth. d. Immunit.; Zuntz, Bull. Acad. de méd. de Belg. **1910**.

[3]) Diese Zeitschr. **48**, 224, 1913.

[4]) Man kann wohl hinzufügen, daß die Bildung unlöslicher Niederschläge bei anorganischen Ionenreaktionen viel mehr Ähnlichkeit mit der Spezifizität der immunchemischen Vorgänge hat als die zum Vergleich herangezogenen Erscheinungen der organischen Chemie.

weitergehen, als mir auch meine Hypothese des elektrochemischen Charakters der Immunreaktionen durch die Versuche von M. und D. durchaus nicht widerlegt zu sein scheint.

M. und D. führen gegen die elektrochemische Hypothese an, daß Antigene und Antikörper miteinander auch bei solchen H-Ionenkonzentrationen reagieren, bei denen die reagierenden Stoffe gleiche elektrische Ladung haben. Die Autoren haben diese Tatsache durch Variation der H˙-Konzentration und Bestimmung der Flockungspunkte viel genauer als vorher präzisiert, im Wesen ist aber ihr Einwand mit jenem von Coehn[1]) identisch, der den gleichen Schluß wie M. und D. aus dem Umstande zog, daß unter den gewöhnlichen Bedingungen Toxin und Antitoxin im elektrischen Stromgefälle nach der gleichen Richtung hin wandern und trotzdem einander neutralisieren. Diese Tatsache ist nach allen Erfahrungen nicht zu bezweifeln, aber sie besagt nichts gegen die Möglichkeit einer Umladung bei gegenseitiger Einwirkung. So wurde von mir[2]) und in eingehenden Untersuchungen von Pauli und Flecker[3]) festgestellt, daß sich Eiweiß bei neutraler Reaktion sowohl mit positiven als negativen Kolloiden verbindet. Leicht kann man sich auch von folgendem Verhalten überzeugen. Man bringt in Lösungen von variiertem H-Ionengehalte (Essigsäure-Acetatmischungen, Phosphatmischungen) koaguliertes Serumeiweiß und wässerige Lösungen sauerer oder basischer Farben zusammen, z. B. Diaminreinblau, Gentianaviolett. Es findet nun nicht etwa die Färbung nur an einem oder dem anderen Ende der Reihe statt, um im isoelektrischen Punkte scharf abzuschneiden, sondern die Färbung des Eiweißes nimmt allmählich ab und reicht über den isoelektrischen Punkt hinaus. So ist selbst bei einer weit geringeren H˙-Konzentration, als dem Flockungspunkte des Eiweißes entspricht, z. B. $[H^{\cdot}] = 10^{-10}$, die Färbung mit dem saueren Diaminreinblau noch recht intensiv, trotz der im elektrischen Felde unter diesen Umständen zu erkennenden negativen Ladung des Eiweißes.

Als wichtigstes Beweismoment führen M. und D. an, daß

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. **1904**, Nr. 35.

[2]) Münch. med. Wochenschr. **1904**, Nr. 27.

[3]) Diese Zeitschr. **41**, 461, 1912.

nach einer vorhergehenden Untersuchung[1]) von ihnen die Fällung zweier amphoterer Kolloide derart von dem Gehalte der Lösung an Wasserstoffionen abhängig ist, daß sie ein Optimum hat, wenn das eine Kolloid positiv, das andere negativ geladen ist, also in einer Region zwischen den durch Flockung bestimmten, isoelektrischen Punkten der beiden reagierenden Substanzen. Diese Untersuchungen hatten die Fällung von Albumin und Casein durch Nucleinsäure zum Gegenstand. Da nun die hier gefundene Regel, wie M. und D. in ihrer neuen Arbeit zeigen, für die spezifische Agglutination und Präcipitation nicht gilt und diese Flockungen in geringerem Grade als Nucleinsäurefällungen von der Wasserstoffionenkonzentration abhängen, glauben die Autoren den Beweis erbracht zu haben, daß die spezifischen Immunreaktionen im Wesen von den unspezifischen auf elektrischer Ausgleichung beruhenden Kolloidfällungen durchaus verschieden sind.

Hier ist nun zu bedenken, daß M. und D. als Grundlage für diese apodiktische Folgerung Versuche mit einer einzigen Substanz, der Nucleinsäure, zu Gebote stehen, die, wie die Autoren selbst bemerken, stark sauere Eigenschaften hat und daß aus diesem Grunde die Versuche zu einem rein empirischen Schluß auf Körper von viel ausgesprochener amphoterem Charakter nicht geeignet erscheinen.

An einer theoretischen Ableitung für die Allgemeingültigkeit der bei der Nucleinsäurefällung gefundenen Regel fehlt es aber um so mehr, als die Art der Abhängigkeit unspezifischer Kolloidfällungen von den Flockungspunkten der Komponenten nicht klar zu übersehen ist. Denn aus den Versuchen von M. und D. selbst geht hervor, daß Kolloide von verschiedenem Flockungspunkt nicht notwendig unter Niederschlagsbildung oder überhaupt merklich reagieren, die Bildung stabiler Komplexe und unlöslicher Kolloidverbindungen also von anderen Eigenschaften der Stoffe wesentlich mitbedingt wird. Daß amphotere Substanzen von gleichem oder wenig verschiedenem Flockungspunkte nicht oder nur in einem bestimmten H-Ionenintervall elektrochemisch reagieren können, läßt sich aber schon mit Rücksicht darauf nicht behaupten, daß Molekel (Zwitterionen) in Betracht kommen, die gleichzeitig positive und negative

[1]) Diese Zeitschr. 39, 496.

Ionen abspalten. Unter der Voraussetzung solcher Ionen ist selbst in der Lösung eines einzigen amphoteren Körpers die Bildung von Salzen entweder innerhalb einer oder zwischen verschiedenen Molekeln anzunehmen.

An einem Beispiel möchte ich übrigens zeigen, daß die Abhängigkeit von dem Säuregrad selbst bei sehr nahe verwandten Reaktionen merklich verschieden sein kann.

Je 0,5 ccm einer Aufschwemmung gekochter Blutstromata von Kaninchen und Rind wurden in je zwei Röhrchen zu 2 ccm einer Lösung[1]) von

A) $^{n}/_{100}$-Essigsäure 0,5 n-Natriumacetat 5,0 Wasser 24,5
B) n-Essigsäure 21,9 n-Natriumacetat 5,0 Wasser 3,1
C) n-sekundär. Natriumphosphat

zugefügt und dann mit 0,4 ccm einer 10fach verdünnten Ricinussamenextraktes (mit einem Gehalt von 1 % NaCl) versetzt. Nach mehrstündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde abzentrifugiert und der Agglutiningehalt der überstehenden neutralisierten Flüssigkeiten mit Hilfe von Kaninchenblut ausgewertet. Es ergaben sich die folgenden Zahlen, die zeigen, daß die Absorption des Agglutinins durch verschiedene Stromata in ungleichem Grade von dem H-Ionengehalt beeinflußt wird.

Ursprüngliche Lösung	320
Kaninchen A	4
Kaninchen B	64
Kaninchen C	4
Rind A	32
Rind B	64
Rind C	64

Es wird von Interesse sein, ähnliche Beobachtungen in einer größeren Zahl von Fällen zu machen, um festzustellen, ob hier das Verhalten der einzelnen Komponenten oder nur die besonderen Kombinationen maßgebend sind.

Im Anschluß an die geäußerten Bedenken gegen die Deduktionen von M. und D. führe ich einige Erscheinungen an, die darauf hinweisen, daß die spezifischen Eigenschaften der immunchemischen Substrate mit elektrochemischen Unterschieden verknüpft sind. Schon vor längerer Zeit habe ich darauf hingewiesen[2]), daß sich verschiedene Arten von Blutkörperchen gegen Säuren und Basen im allgemeinen ungleich verhalten. Das Protokoll eines solchen Versuches ergab:

0,5 ccm der Säure- und Laugenverdünnungen + 1 Tropfen 10 %ige Aufschwemmung von gewaschenem Blut.

---

[1]) Siehe S. 181.

[2]) Münch. med. Wochenschr. **1904**, Nr. 27.

Blutart	n-HCl		
	1/400	1/800	1/1600
Ablesung nach 10 Minuten.			
Rind	0	0	0
Pferd	0	0	0
Hammel	Verfärbung	deutl. Lösung	0
Ziege	do.	sehr starke Lösung	0
Kaninchen	0	0	0
Kaninchen	0	0	0
Ablesung nach 30 Minuten			
Rind	Verfärbung Lösung	0	0
Pferd	do.	fast kompl. Lösung	0
Hammel	do.	do.	0
Ziege	do.	do.	0
Kaninchen	do.	Spur Verfärbung	0
Kaninchen	do.	Spur Verfärbung	0

Blutart	n-NaOH			
	1/20	1/40	1/80	1/160
Ablesung nach 1 Minute				
Rind	sehr starke Lösung	0	0	0
Pferd	komplette Lösung	0	0	0
Hammel	0	0	0	0
Ziege	komplette Lösung	0	0	0
Kaninchen	do.	komplette Lösung	0	0
Kaninchen	do.	do.	0	0
Ablesung nach 5 Minuten				
Rind	komplette Lösung	sehr starke Lösung	0	0
Pferd	do.	komplette Lösung	0	0
Hammel	do.	0	0	0
Ziege	do.	komplette Lösung	0	0
Kaninchen	do.	do.	sehr starke Lösung	0
Kaninchen	do.	do.	komplette Lösung	0

Unterschiede in der Ausflockung von verschiedenen Blutkörperchen durch Metallsalze stellte später (bei U. Friedemann) Hirschfeld[1]) fest. Neue wichtige Untersuchungen sind Michaelis[2]) zu verdanken, der durch genauere Untersuchung der Säureflockung von Bakterien mit Hilfe von Lösungen abgestuften H-Ionengehaltes charakteristische Unterschiede zwischen verschiedenen Bakterienspezies, die der agglutinablen Substanz selbst zukommen, auffinden konnte. Ich habe diese Methode von Michaelis angewendet, um im Anschluß an meine erwähnten Beobachtungen neue Anhaltspunkte für die elektrochemische Besonderheit der Blutkörperchen verschiedener Tierarten zu gewinnen und zu diesem Zwecke nach Sachs (durch Erwärmen des gewaschenen Blutes auf 60°) hergestellte Stromata angewendet.

Es wurden nebenstehende Lösungen benutzt.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$^{n}/_{10}$-Natriumacetat	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
$^{n}/_{100}$-Essigsäure	0,5	1,5	4,5	—	—	—	—	—	—
$^{n}/_{10}$-Essigsäure	—	—	—	1,4	4,1	—	—	—	—
n-Essigsäure	—	—	—	—	—	1,2	3,6	10,9	21,9
Wasser	24,5	23,5	20,5	23,6	20,9	23,8	21,4	14,1	3,1
Annähernder $H^{\cdot}$-Ionengehalt	$1,8\cdot10^{-7}$	$5,4\cdot10^{-7}$	$1,6\cdot10^{-6}$	$4,8\cdot10^{-6}$	$1,4\cdot10^{-5}$	$4,2\cdot10^{-5}$	$1,3\cdot10^{-4}$	$4\cdot10^{-4}$	$8\cdot10^{-4}$

Zu 2 ccm der Lösungen wurde je 1 Tropfen der auf das ursprüngliche Blutvolumen gebrachten in 1 % NaCl suspendierten Stromata zugefügt. Die Flockungen beginnen rasch einzutreten.

Bei Verwendung des Blutes anderer Individuen derselben Spezies wurden der Hauptsache nach ähnliche Resultate erhalten, so daß das Bestehen von Differenzen der Flockungspunkte der Stromaarten bestätigt wurde. Bemerkenswert ist das ähnliche Verhalten der auch in immunchemischer Beziehung (z. B. bei der Kobrahämolyse) eine gewisse Übereinstimmung

[1]) Arch. f. Hygiene **63**, 237.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. **1911**, 969; Zeitschr. f. Immunitätsf. **12**, 268, 1912.

Die folgende Tabelle gibt die Ablesung eines Versuches nach 4 Stunden an; die Intensität der Flockung ist durch die Zeichen ±, +, +±, ++ dargestellt.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pferd	0	0	±	±	+	+±	++	++	++
Katze	0	±	±	+	+	+±	++	++	+±
Ziege	0	0	0	0	±	++	++	++	+
Hammel	0	0	0	0	±	+	+	+±	+±
Taube	+	+	+	+	+	++	++	+	+±
Ratte	±	+	+±	++	++	++	+±	+	+
Kaninchen . . .	±	+	+±	++	++	+±	+	0	0
Meerschweinchen	0	±	+	+±	+±	+±	+±	+±	+
Huhn	0	0	0	0	±	+	±	±	0
Rind	0	0	0	0	0	±	+	+±	+±
Gans	0	0	±	+	+±	++	++	+±	+
Mensch	0	0	0	±	+	+±	++	++	+±

zeigenden Körperchen von Rind, Hammel und Ziege, ferner die Besonderheit der Flockung des Kaninchenblutes, dessen Stromata schon bei der H˙-Konzentration des destillierten Wassers verklumpen und das andererseits durch große Empfindlichkeit gegenüber Hämolysinen ausgezeichnet ist. Diese und die oben erwähnten Erscheinungen zeigen, daß sicher elektrochemische Reaktionen artspezifische Unterschiede erkennen lassen und sprechen m. E. gegen die Anschauung von Michaelis und Davidsohn, daß eine Erklärung der Spezifizität auf Grund derartiger Vorgänge unmöglich zu geben sei.

Anhangsweise möchte ich noch erwähnen, daß bei der Anwendung gewöhnlicher Eiweißfällungsmittel Unterschiede zwischen verschiedenen Serumarten wahrzunehmen sind[1]). Schon bei der Fällung mit Alkohol zeigen sich Unterschiede, da z. B. bei gleichem Eiweißgehalt der Serumverdünnungen Rinderserum leichter niedergeschlagen wird als Pferdeserum. Nimmt man verschiedenartige Fällungsmittel (Säuren, Schwermetallsalze, Phenole), so zeigt es sich, daß zwar im allgemeinen stärker (z. B. Rinderserum) und schwächer fällbare (z. B. Pferdeserum) Sera existieren[2]), daß aber die Unterschiede bei verschiedenen Fällungsmitteln

---

[1]) Die Versuche wurden vor längerer Zeit mit Herrn Streng begonnen.

[2]) Ein durch starke HCl oder H_2SO_4 in Kaninchenserum entstandener Niederschlag löste sich beim Eingießen in Wasser leichter auf, als entsprechende Niederschläge von Pferde- oder Rinderserum.

ungleich sind und die Kurven der Niederschlagsbildung bei steigendem Zusatz der Fällungsmittel nicht parallel laufen.

Im folgenden Versuche zeigte sich z. B. bei der Kombination zweier Sera (Pferd, Kaninchen) mit zwei Fällungsmitteln eine deutliche Diskongruenz. (Ablesung nach 1 Stunde.)

1 ccm $^1/_5$ Serum (verdünnt mit 1 $^0/_0$ iger NaCl-Lösung) + der in Kubikzentimetern angegebenen Menge 7n-H_2SO_4 bzw. 2,5 $^0/_0$ iger Trichloressigsäure.

	Trichloressigsäure				
	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2
Pferd 1	0	0	Spur Opalescenz	dichte Trübung	sehr starker Niederschlag
„ 2	0	0	do.	do.	do.
„ 3	0	0	do.	sehr dichte Trübung	do.
Kaninchen 1 . .	0	0	0	do.	do.
„ 2 . .	0	0	0	do.	do.
„ 3 . .	0	0	0	do.	do.

	Schwefelsäure				
	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6
Pferd 1	0	0	Spur Opalescenz	starke Opalescenz	sehr starke Opalescenz
„ 2	0	0	do.	sehr starke Opalescenz	dichte Trübung
„ 3	0	0	schwache Opalescenz	dichte Trübung	starker Niederschlag.
Kaninchen 1 . .	0	0	starker Niederschlag	sehr starker Niederschlag	sehr starker Niederschlag
„ 2 . .	0	0	do.	do.	do.
„ 3 . .	0	0	sehr starker Niederschlag	do.	do.

Ein ziemlich auffallendes Ergebnis zeigte der folgende Versuch (Ablesung nach 1 Stunde.)

1 ccm $^1/_5$-Serum (Pferd, Rind, Kaninchen) + 0,3 $^0/_0$ iges Uranacetat bzw. 0,25 $^0/_0$ iges Sublimat.

	Uranacetat			
	0,1	0,2	0,4	0,8
Pferd 1	0	0	sehr starker Niederschlag	sehr starker Niederschlag
„ 2	0	Spur Opalescenz	do.	do.
„ 3	0	0	do.	do.

	Uranacetat			
	0,1	0,2	0,4	0,8
Rind 1	0	deutliche Trübung	do.	do.
„ 2	0	do.	do.	do.
„ 3	0	schwache Trübung	starker Niederschlag	starker Niederschlag
Kaninchen 1 . . .	0	0	do.	do.
„ 2 . . .	0	0	deutlicher Niederschlag	do.
„ 3 . . .	0	0	starker Niederschlag	do.

	Sublimat				
	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6
Pferd 1	0	0	starker Niederschlag	starker Niederschlag	starker Niederschlag
„ 2	0	schwache Trübung	do.	do.	do.
„ 3	0	schwacher Niederschlag	do.	do.	do.
Rind 1	schwache Opalescenz	deutlicher Niederschlag	do.	do.	do.
„ 2	0	do.	do.	do.	do.
„ 3	0	do.	do.	do.	do.
Kaninchen 1 . .	0	0	0	Spur Opalescenz	schwache Opalescenz
„ 2 . .	0	0	0	0	Spur Opalescenz
„ 3 . .	0	schwache Opalescenz	schwache Opalescenz	schwache Opalescenz	deutliche Opalescenz

Die Rolle der Oxydasen in der Blattrollkrankheit der Zuckerrübe.

Von

Herbert H. Bunzel.

(Aus dem Bureau of Plant Industry, Department of Agriculture, Washington D. C.)

(Veröffentlicht mit Erlaubnis des Agrikultur-Ministers der Vereinigten Staaten.)

(Eingegangen am 31. Januar 1913.)

Einleitung.

Die Blattrollkrankheit scheint zuerst um das Jahr 1898 die Aufmerksamkeit in Kalifornien erregt zu haben. Dieselbe ist in Kürze durch folgende Symptome gekennzeichnet (Shaw, 1910).[1]) Das Rollen der Blätter nach innen, Verzerrungen der Adern angegriffener Blätter, „haarige Wurzel" und verzögertes Wachstum. Auf die bedrohliche Art der Krankheit wurde in früheren Veröffentlichungen dieses Bureaus [Townsend[2]), 1906; Shaw, 1912] hingewiesen, besonders darauf, daß die großen Geldverluste in Rübenbezirken nicht nur durch verhindertes Wachstum der Zuckerrübe, sondern auch durch Abnahme der Samenerzeugung verursacht würden. Das Untersuchungsamt des Ackerbauministeriums für Baumwolle-, Gemüse- (Truck Crop) krankheiten und Zuckerpflanzen hat daher eine systematische Studie der Krankheit resp. Ursache und Verhütung geplant.

Ursache der Krankheit.

Hierüber herrschen vielerlei Meinungsarten. Bald nach der Krankheitserscheinung in Kalifornien holte die Spreckelsche

---

[1]) Harry B. Shaw, The curly top of beets. Bulletin **1910**, 181. Bureau of Plant Industry, U. S. Department of Agriculture.

[2]) C. O. Townsend, Curly top, a disease of the sugar beet. Bulletin **1908**, 122. Bureau of Plant Industry, U. S. Department of Agriculture.

Zuckergesellschaft die Ansichten von amerikanischen und europäischen Sachverständigen ein, deren Aussprüche ausführlich von Linhart[1]) (1901) gesammelt und besprochen wurden. Sie schreiben die Krankheit einer der folgenden Ursachen zu: Heißen Winden, unzureichender Düngung, Insekten, Mikroorganismen, unregelmäßiger Bewässerung und Regen und unbekannten Lufteigentümlichkeiten. Obgleich später bewiesen wurde, daß sich die Krankheit nach dem Bisse eines Insektes (Eutettix tenella [Bull. 1911])[2]) entwickelte, ist doch nichts über das Wesen dieser Ursache, noch über die betreffenden abnormen Vorgänge bekannt.

Zweck der Untersuchung.

Herr W. A. Orton, Vorstand des Untersuchungsamtes für Zuckerrübenpflanzen, ersuchte den Verfasser, die oxydierenden Enzyme der normalen und kränklichen Rüben vom quantitativen Standpunkte zu studieren. Man hoffte, daß ausgedehnte und genaue Erforschung des physiologischen Verhaltens gesunder und erkrankter Pflanzen die Ätiologie dieser Krankheit fördern und so auch ihrer Bekämpfung dienen werde.

Frühere Arbeit über die Rolle der Oxydasen bei Pflanzenerkrankungen.

Auch andere haben es für ratsam gehalten, die oxydierenden Enzyme in Zusammenhang mit pathologischen Zuständen der Pflanzen zu studieren. A. F. Woods[3]), 1902, aus diesem Amte, erklärte die Mosaikkrankheit des Tabaks auf Grundlage von Störungen im Oxydasenmechanismus. Er fand stets eine größere Menge von Oxydasen in den gesprenkelten Blättern als in den normalen. Ferner begründete er, daß dieses Übermaß von Oxydasen die Wirkung von Diastase in den Blättern

[1]) G. Linhart, Die kalifornische Rübenkrankheit. Österr.-Ungar. Zeitschr. für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 30, Heft 1, 26 bis 42, 1910.

[2]) E. D. Ball, Some insects injurious to truck crops. The leafhoppers of the sugar beet and their relation to the „curly-leaf“ condition. Bulletin 1911, Nr. 66, part IV. Bureau of Entomology, U. S. Department of Agriculture.

[3]) Albert F. Woods, Observations on the mosaic disease of tobacco. Bulletin 1902, 18. Bureau of Plant Industry, U. S. Department of Agriculture.

stark beeinflußt und auf diese Weise den Stoffwechsel der Pflanze stört.

Hunger[1]) (1903 bis 1905), Sorauer[2]) (1908), die diese Theorie prüften, indem sie die Blattrollkrankheit an Kartoffeln studierten, kamen zu dem Schlusse, daß die die Krankheit begleitende Farbenveränderung nicht Fusarien, anderen Pilzen oder Bakterien zuzuschreiben sei, sondern enzymatischen Gleichgewichtsstörungen. Diese Störungen zeigen sich in vermehrter Zucker- und Stärkebildung und begünstigen auf diese Weise das Wachstum der Parasiten. Letztere sind aber nach Sorauer für die zahlreichen Anzeichen der Krankheit verantwortlich. Sorauers Schlüsse fußen meistens auf Grüß's Experimenten (1907). Sorauer betont hauptsächlich die größere Intensität der Peroxydasenreaktion und die Verminderung der Oxydasen- und Tyrosinasenreaktion der erkrankten Knollen im Vergleich zu den gesunden. Ähnliche Anschauungen drückte Pozzi-Escot[3]) (1905) aus und schrieb eine Reihe von Pflanzenkrankheiten einem Oxydasenüberschuß zu, indem die Oxydasen die anderen anwesenden Enzyme zerstören. Doby[4]) (1911) maß vor kurzem die Oxydasen in gesunden und erkrankten Kartoffeln und konnte keine Beziehungen zwischen dem Oxydasengehalt und dem Gesundheitszustand der Knollen feststellen. In einer späteren Arbeit[5]) (1912) wiederholte Doby die Versuche in größerem Maßstabe und bestätigte im allgemeinen Sorauers Hypothese über enzymatische Störungen bei der Blattrollkrankheit der Kartoffel. Seine Resultate bewiesen größere Mengen von Oxydasen, Peroxydasen und Tyrosinasen in erkrankten Kartoffeln. Auch wurde die Ätiologie dieser Krankheit in dem Sammelreferat von Appel und Schlumberger[6]) (1911) eingehend erörtert, doch muß noch viel

[1]) Untersuchungen und Betrachtungen über die Mosaikkrankheit der Tabakpflanzen. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten, **15**, Nr. 5, 257 bis 311, 1905.

[2]) P. Sorauer, Die angebliche Kartoffelepidemie, genannt die „Blattrollkrankheit". Internationaler phytopathologischer Dienst **1**, 33 bis 59, 1908.

[3]) Pozzy-Escot, Quelques Idées modernes sur le rôle des diastases oxydantes dans les maladies des végétaux. Bulletin de l'Association des chimistes de sucrerie, etc. 22, 665 bis 667, 1905.

[4]) G. Doby, Abhandlungen über Enzymwirkungen. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten **17**, Nr. 2, 65 bis 79, Nr. 4, 193 bis 223, 1907. — Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. I. Die Oxydasen der ruhenden Knollen. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten **21**, Nr. 1/2, 10 bis 17, 1911.

[5]) Biochemische Untersuchungen über die Blattrollkrankheit der Kartoffel. II. Die Oxydasen der ruhenden und angetriebenen Knollen. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten **21**, Nr. 6, 321 bis 336, 1912.

[6]) O. Appel und O. Schlumberger. Die Blattrollkrankheit und unsere Kartoffelernten. Arbeiten der deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft **1911**, Heft 190.

über die Oxydasen der normalen und blattrollkranken Kartoffel getan werden, bevor definitive Schlüsse gezogen werden können. Verfasser beabsichtigt bei Gelegenheit diese Frage zu studieren.

Erhaltene Resultate bei Benutzung von Treibhausmaterial.

Im Vorfrühling 1911 wurden die Oxydasengehalte im Treibhaus gezogener gesunder und erkrankter Zuckerrüben verglichen. Alle diese Pflanzen sind unter fast denselben Verhältnissen gewachsen. Dies war besonders bei den gesunden Pflanzen der Fall, die von gleicher Größe und Ansehen waren. Die Messungen wurden gemäß Verfassers Methode an den Blättern vorgenommen; die Versuche sind einzeln in einem früheren Bulletin [Bunzel[1]), 1912] angegeben und die Resultate selbst sind kurz in Tabelle I dargestellt.

Tabelle I.

Oxydasengehalt von im Treibhause gezogenen gesunden und erkrankten Zuckerrüben.

Art des Saftes	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers
1. Saft von normalen Rübenblättern	1,16
2. „ „ „ „	1,07
3. „ „ kranken „	5,61
4. „ „ „ „	4,30
5. „ „ normalen „	1,10
6. „ „ „ „	1,17
7. „ „ kranken „	2,72
8. „ „ normalen „	1,19
9. „ „ „ „	1,21
10. „ „ kranken „ mit nur leichten Symptomen	1,51
Durchschnittsabsorption in Versuchen mit dem Saft normaler Pflanzen	1,15
Dieselbe in Einheiten ausgedrückt[2])	0,166
Gewöhnliche Absorption in Versuchen mit dem Saft kranker Pflanzen	3,54
Dieselbe in Einheiten ausgedrückt	0,509

[1]) Herbert H. Bunzel, The measurement of the oxidase content of plant juices. Bulletin **1912**, 238. Bureau of plant Industry, U. S. Department of Agriculture. — Abstracts in Journal of the Washington Academy of Science 2, Nr. 8, 209 bis 210. — Journal of the American chemical society **34**, 303 bis 316. — Zeitschr. f. biol. Technik und Methodik 2, Nr. 7, 307 bis 309.

[2]) Die gewählte Einheit war eine so starke Oxydasenlösung, daß 1 l derselben die Oxydation des Equivalentes von 1 g Wasserstoff bewirken konnte.

Die in Tabelle I gegebenen Versuche zeigen einen auffallenden Unterschied zwischen dem Safte normaler und dem kranker Rübenblätter. In allen diesen Versuchen ist der Oxydasengehalt merklich größer in erkrankten als in gesunden Blättern. Der Oxydasengehalt normaler Blätter scheint ziemlich konstant zu sein, während der Saft der blattrollkranken Blätter große Schwankungen zeigt. Die im Versuch 3 benützten Blätter ergeben eine 5 mal so hohe Zahl als normale Blätter, während die im Versuch 10 benützten Blätter die Normale bloß um 25 % überschreiten. Es ist eine sehr interessante Tatsache, daß die Abweichung des Oxydasengehaltes von der Norm bei den pathologischen Blättern mit dem Zustand derselben parallel läuft. Die im Versuch 3 benützten Pflanzen zeigen ausgesprochene Symptome der Blattrollkrankheit, in dem die Blätter klein und geschrumpft sind, auch sind „haarige Wurzeln“ häufig, während die kranke Wurzel vom Versuch 10 entsprechend ihrem bloß mäßig erhöhten Oxydasengehalt nur ein schwaches Rollen der Blätter aufweist.

Experimenteller Teil.

Obwohl diese Resultate gewisse Unterschiede im Oxydasenmechanismus gesunder und kranker Treibhauszuckerrüben zeigen, ist man nicht berechtigt, aus ihnen auf die Zustände natürlich im Felde gewachsener Pflanzen zu schließen. Es wurde deshalb eine Reise nach Ogden, Utah, unternommen, wo jährlich etwa $^1/_2$ Million Tonnen Zuckerrüben geerntet werden. Der Verfasser verbrachte den Monat August 1911 in der Zuckerrübenfabrik der „Amalgamated Sugar Co.“, wo alle die hier beschriebenen Versuche ausgeführt wurden. Der Hauptzweck der Reise war, die Schwankung des Oxydasengehaltes in den frischen Pflanzen festzustellen.

Die Bestimmungen wurden in einem besonderen Luftthermostaten ausgeführt, der sich von dem bereits beschriebenen hauptsächlich in bezug auf seine Einfachheit unterschied. Gewärmt wurde durch Lampen, die in einem Kreise hinter dem Fächer angebracht waren; auch wurde der Kasten durch eine Schwingtür an Stelle der am vorigen Apparat vorhandenen Schiebetür geschlossen. Die nötigen Schalter, Kondensatoren und Trockenzellen waren alle an einem Ende des Thermostaten außerhalb der eigentlichen Versuchskammer angebracht.

Das Versuchsmaterial wurde immer frisch benutzt, in einer Fleischhackmaschine zerkleinert und durch ein Stück Rohseide ausgepreßt. In allen Versuchen wurden 8 ccm 1 %iger Pyrogallollösung, 2 ccm Blättersaft und 1 ccm normale Natronlauge im Kölbchen benutzt. Die Schüttelgeschwindigkeit war 5 vollkommene Touren in 3,5 Sekunden und die Länge jeder Bewegung 10 cm. Die Temperatur war 14,5° ± 0,1°.

Oxydasengehalt von Blättern, Wurzeln und Samen normaler gesunder Pflanzen unter verschiedenen Zuständen.

Serie 1.

22. August 1911.

Normale gesunde Rüben aus Herrn Chandlers Feld. Um 7 Uhr früh wurden Blätter zweier Arten auf demselben Grundstück gesammelt: Sehr große Blätter (30 bis 40 cm lang) und kleine (weniger als 15 cm lang). Die Oxydasenapparate 5 und 7 wurden mit dem Safte der kleinen Blätter beschickt, während Nr. 11 und 12 für die Versuche mit den großen Blättern benutzt wurden.

Tabelle II.

Manometerablesungen wie von Serie 1 erhalten.

Zeit der Manometerablesung	Zeit	Temperatur zur Zeit der Messung °C	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat			
			Saft von kleinen Blättern		Saft von großen Blättern	
			5	7	11	12
9³⁰ a. m.	0′	40,2	0	0	0	0
9⁴⁰ „	20′	40,2	−1,20	−1,05	−0,40	−0,35
10⁰⁰ „	40′	40,3	−2,80	−2,30	−1,20	−0,80
10²⁰ „	60′	40,2	−3,35	−2,80	−1,30	−1,00
10⁴⁰ „	80′	40,2	−3,40	−3,00	−1,30	−1,00
11⁰⁰ „	100′	40,2	−3,60	−3,15	−1,45	−1,10
11²⁰ „	120′	40,2	−3,60	−3,20	−1,50	−1,10

Mittel für 5 und 7: 3,40.

Mittel für 11 und 12: 1,30.

Aktivität des Saftes kleiner Blätter, ausgedrückt in Einheiten: 0,499 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes großer Blätter, ausgedrückt in Einheiten: 0,184 (Pyrogallol).

Die Übereinstimmung der Duplikate in Serie 1 ist eine gute und der Unterschied zwischen dem Oxydasengehalte der kleinen und großen Blätter ist auffallend. Die kleinen Blätter sind fast 3 mal so reich an Oxydasen als die großen.

Serie 2.

8. August 1911.

Gesunde Pflanzen, sehr jung. Die Blätter waren nur 2 bis 7 cm lang. Pflanzen waren in dem an die Versuchsstation westlich angrenzenden Garten gesammelt. Pflanzen wurden mittels Musselinnetzen gegen die Insekten geschützt und sahen vollkommen gesund aus.

Tabelle III.

Zeit der Manometerablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat	
		3	5
9^{30} a. m.	0′	0	0
10^{00} „	30′	−0,75	−0,40
10^{15} „	45′	−0,95	−0,80
10^{30} „	60′	−1,20	−1,20
10^{45} „	75′	−1,30	−1,25
11^{00} „	90′	−1,30	−1,20

Aktivität des Blättersaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,180 (Pyrogallol).

Serie 2 zeigt, daß der Blättersaft der gesunden Pflanzen dem der Treibhauspflanzen annähernd gleich ist (Tabelle I). Das Durchschnittsresultat aus 6 Treibhausversuchen war 0,166 (Pyrogallol), bei dem sorgfältig geschützten und deshalb gesunden Material im Versuchsgarten Utah war es etwas höher, nämlich 0,180 (Pyrogallol). Wie später gezeigt wird, ergeben die normalen Pflanzen, die unter natürlichen Bedingungen wachsen, höhere Resultate als die normalen Treibhauspflanzen.

Die Zahlen in Serie 1, die sich auf die großen Blätter beziehen, stimmen mit denen in Tabelle I und III überein, indem der Oxydasengehalt 0,184 (Pyrogallol) ist. Die kleinen Blätter von Pflanzen, die in unmittelbarer Umgebung der großblätterigen gesammelt wurden, zeigten einen viel höheren Oxydasengehalt, i. e. 0,499 (Pyrogallol). Obwohl diese kleinen Blätter keine Anzeichen von Blattrollkrankheit zeigten, waren sie nicht streng normal, da ihr Wachstum unterdrückt war. Entsprechend dieser Wachstumsverzögerung gibt es einen Anstieg im Oxydasengehalt.

Alle untersuchten Pflanzen waren nicht zur selben Tageszeit gesammelt. Serien 3 bis 7 wurden ausgeführt, um die Oxydasenschwankungen mit den verschiedenen Tageszeiten zu bestimmen. Diese Versuche ermöglichen die unter verschiedenen physiologischen Bedingungen beobachteten Unterschiede auch dann richtig zu deuten, wenn die Blätter zu verschiedenen Tageszeiten gesammelt wurden.

Serie 3.

25. August 1911.

Große Blätter (30 cm lang) zu Sonnenaufgang (6^{10}) auf dem an die Zuckerfabrik östlich angrenzenden Felde gesammelt. Die Blätter

wurden von zwei sich sehr ähnelnden Pflanzen „a" und „b" genommen. Nr. 3 und 7 wurden für a benutzt, 11 und 12 für b.

Tabelle IV.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat			
		a 3	a 7	b 11	b 12
7^{20} a. m.	0'	0	0	0	0
7^{45} „	25'	−1,10	−0,80	−0,70	−0,75
8^{10} „	50'	−1,60	−1,30	−1,30	−1,40
8^{30} „	70'	−1,90	−1,70	−1,50	−1,80
8^{50} „	90'	−1,90	−1,70	−1,75	−1,80

Aktivität des Blättersaftes „a", ausgedrückt in Einheiten: 0,259 (Pyrogallol).

Aktivität des Blättersaftes „b", ausgedrückt in Einheiten: 0,256 (Pyrogallol).

Serie 4.

25. August 1911.

Fortsetzung von Serie 3. Blätter derselben Pflanzen wie in Serie 3 bei Sonnenuntergang (7^{15} abends) gesammelt.

Tabelle V.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat		
		a 3	b 5	b 7
8^{30} p. m.	0'	0	0	0
8^{55} „	25'	−1,00	−0,90	−1,10
9^{20} „	50'	−2,20	−2,00	−2,00
9^{40} „	70'	−2,90	−2,70	−2,60
10^{00} „	90'	−3,30	−3,00	−2,70
10^{20} „	110'	−3,30	−3,20	−3,10

Aktivität des Blättersaftes „a", ausgedrückt in Einheiten: 0,468 (Pyrogallol).

Aktivität des Blättersaftes „b", ausgedrückt in Einheiten: 0,453 (Pyrogallol).

Serie 5.

30. August 1911.

Es wurden 5 große (25 cm lange) Blätter von je zwei einander ähnlichen Pflanzen auf dem die Fabrik östlich begrenzenden Felde kurz vor Sonnenaufgang (6^{00}) gesammelt. Nr. 3 und 5 erhielten den Blättersaft von „a", Nr. 7 und 6 den Blättersaft von „b".

Tabelle VI.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat			
		3	5	7	6
7^{00} a. m.	0′	0	0	0	0
7^{15} „	15′	− 0,60	− 0,70	− 0,70	− 0,65
7^{30} „	30′	− 1,05	− 1,00	− 1,20	− 1,05
7^{45} „	45′	− 1,20	− 1,15	− 1,35	− 1,20
8^{00} „	60′	− 1,40	− 1,50	− 1,60	− 1,40
8^{15} „	75′	− 1,55	− 1,60	− 1,70	− 1,60
8^{30} „	90′	− 1,75	− 1,70	− 1,90	− 1,80
8^{45} „	105′	− 1,00	− 1,75	− 1,90	− 1,80

Aktivität des Blättersaftes „a", ausgedrückt in Einheiten: 0,256 (Pyrogallol).

Aktivität des Blättersaftes „b", ausgedrückt in Einheiten: 0,266 (Pyrogallol).

Serie 6.

30. August 1911.

Um 9^{30} morgens gesammelte Blätter von denselben zwei Pflanzen wie in Serie 5.

Tabelle VII.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat			
		3	5	6	7
10^{00} a. m.	0′	0	0	0	0
10^{20} „	20′	− 0,80	− 0,70	− 0,75	− 0,75
10^{44} „	40′	− 1,20	− 1,30	− 1,35	− 1,30
11^{00} „	60′	− 1,50	− 1,60	− 1,50	− 1,50
11^{20} „	80′	− 1,65	− 1,70	− 1,70	− 1,60
11^{40} „	100′	− 1,80	− 1,85	− 1,85	− 1,80
12^{00} M.	120′	− 1,80	− 1,80	− 1,90	− 1,80

Aktivität des Blättersaftes „a", ausgedrückt in Einheiten: 0,259 (Pyrogallol).

Aktivität des Blättersaftes „b", ausgedrückt in Einheiten: 0,266 (Pyrogallol).

Serie 7.

30. August 1911.

Um 2^{45} p. m. von denselben zwei Pflanzen gesammelte Blätter wie in Serien 5 und 6.

Tabelle VIII.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat			
		3	5	6	7
3^{35} p. m.	0′	0	0	0	0
3^{55} „	20′	−0,80	−0,80	−0,80	−0,70
4^{15} „	40′	−1,40	−1,70	−1,30	−1,30
4^{35} „	60′	−1,90	−1,90	−1,80	−1,60
4^{55} „	80′	−2,15	−2,00	−2,00	−1,90
5^{15} „	100′	−2,25	−2,15	−2,10	−1,90
5^{25} „	110′	−2,25	−2,20	−2,10	−1,90

Aktivität des Blättersaftes „a“, ausgedrückt in Einheiten: 0,319 (Pyrogallol).

Aktivität des Blättersaftes „b“, ausgedrückt in Einheiten: 0,288 (Pyrogallol).

Wie die Serien 3 bis 7 zeigen, findet im Laufe des Tages ein allmählicher Anstieg im Oxydasengehalte statt. Wie die Trockenrückstand- und Aschenbestimmungen derselben Proben (Tabelle XXIII) zeigen, besteht ein Parallelismus zwischen Oxydasen und Wassergehalt derselben Proben. Im Monat August 1911 herrschte in der Umgebung von Ogden große Hitze und Trockenheit, so daß die starken Wasserverluste der Pflanzen leicht zu erklären sind.

Die Serien 8 bis 10 enthalten Versuche über die Verteilung der Oxydasen in der Zuckerrübenpflanze.

Serie 8.

23. August 1911.

1,5 m hohe, anscheinend gesunde Samenpflanze wurde 7^{30} morgens in dem östlich der Station angrenzenden Garten gesammelt. Die Pflanze war frisch, grün und in vorzüglichem Zustande.

Nr. 3 empfing den Wurzelsaft, Nr. 7 den Saft von Blattstielen, Blättern und Blütenschäften, Nr. 11 den Stengelsaft, Nr. 12 den Samensaft und Nr. 13 den Blattsaft.

Tabelle IX.

Zeit der Mano-meter-ablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat				
		Wurzel-saft 3	Mittel-rippen-u.Pe-dicelensaft 7	Stengel-saft 11	Samen-saft 12	Blattsaft 13
9^{35} a. m.	0′	0	0	0	0	0
10^{00} „	25′	−0,65	1,10	0	−1,80	−0,80
10^{20} „	45′	−1,20	1,30	0	−3,00	−1,50
10^{40} „	65′	−1,20	1,60	0	−4,00	−2,00
11^{00} „	85′	−1,40	−1,75	−0,10	−4,70	−2,40
11^{20} „	105′	−1,35	−1,70	−0,10	−4,50	−2,50

Aktivität des Wurzelsaftes, in Einheiten ausgedrückt: 0,194 (Pyrogallol).

Aktivität des Mittelrippensaftes und der Pedicelen, ausgedrückt in Einheiten: 0,245 (Pyrogallol).

Aktivität des Stengelsaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,014 (Pyrogallol).

Aktivität des Samensaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,648 (Pyrogallol).

Aktivität des Blättersaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,360 (Pyrogallol).

Serie 9.

26. August 1911.

Unter denselben Bedingungen gezogen wie jene in Serie 8, wurde eine gesund aussehende, samenhaltende Pflanze um 7^{30} a. m. gepflückt. Nr. 3 wurde für die Blätter, Nr. 5 für die Samen, Nr. 7 für das obere Drittel der Wurzel und Nr. 11 für das untere Drittel der Wurzel benutzt.

Tabelle X.

Zeit der Manometerablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat			
		Blättersaft 3	Samensaft 5	Saft von dem oberen Drittel der Wurzel 7	Saft von dem unteren Drittel der Wurzel 11
9^{40} a. m.	0′	0	0	0	0
10^{00} „	20′	−1,05	−2,00	−1,40	−0,85
10^{20} „	40′	−1,60	−3,50	−2,20	−1,80
10^{40} „	60′	−1,80	−4,00	−2,20	−2,40
11^{00} „	80′	−2,00	−4,10	−2,40	−2,70
11^{20} „	100′	−2,00	−4,05	−2,30	−2,65

Aktivität des Blättersaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,288 (Pyrogallol).

Aktivität des Samensaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,583 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes vom oberen Drittel der Wurzel, ausgedrückt in Einheiten: 0,331 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes vom unteren Drittel der Wurzel, ausgedrückt in Einheiten: 0,381 (Pyrogallol).

Serie 10.

18. August 1911.

Eine Pflanze von demselben Typus wie in den Serien 8 und 9 um 9^{00} a. m. gesammelt. Nr. 3 wurde für Blätter, Nr. 5 für Samen, Nr. 6 für Pedicelen und Mittelrippen der Blätter, Nr. 11 für Stengel, Nr. 12 für die obere Hälfte und Nr. 13 für die untere Hälfte der Wurzel benutzt.

Tabelle XI.

Zeit der Manometerablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat					
		Blättersaft 3	Samensaft 5	Saft von Mittelrippen u. Pedicelen 6	Stengelsaft 11	Saft der oberen Hälfte der Wurzel 12	Saft der unteren Hälfte der Wurzel 13
10^{30} a. m.	0′	0	0	0	0	0	0
11^{00} „	30′	– 1,20	– 2,80	– 1,00	– 0,10	– 0,90	– 1,10
11^{20} „	50′	– 1,55	– 3,70	– 1,15	– 0,15	– 1,05	– 1,35
11^{40} „	70′	– 1,60	– 4,05	– 1,10	– 0,20	– 1,00	– 1,60
12^{00} M.	90′	– 1,60	– 4,10	– 1,20	– 0,15	– 1,00	– 1,65

Aktivität des Blättersaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,230 (Pyrogallol).

Aktivität des Samensaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,590 (Pyrogallol).

Aktivität des Mittelrippen- und Pedicelensaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,173 (Pyrogallol).

Aktivität des Stengelsaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,022 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes aus der oberen Hälfte der Wurzel, ausgedrückt in Einheiten: 0,144 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes aus der unteren Hälfte der Wurzel, ausgedrückt in Einheiten: 0,237 (Pyrogallol).

Die letzte Serie zeigt, daß große Unterschiede im Oxydasengehalte verschiedener Teile derselben Pflanze herrschen. In den chlorophyllhaltigen Teilen der Zuckerrübe läuft die Aktivität parallel mit der Farbenintensität. Die Samen, dunkler als die anderen Teile der Pflanzen, sind am wirksamsten; ihr Saft hat die Aktivität 0,58 bis 0,65 Einheiten (Pyrogallol). Darauf folgen die Blätter mit einem Oxydasengehalt von 0,23 bis 0,36 Einheiten (Pyrogallol); der Stengel und dessen Saft ist blaßgrün und hat dementsprechend die niedere Aktivität von 0,014 bis 0,022 Einheiten (Pyrogallol), während die etwas dunkleren Pedicelen und Petiolen den Oxydasengehalt von 0,17 bis 0,25 Einheiten (Pyrogallol) betragen. Die mit den Wurzeln erhaltenen Resultate stimmen mit den früheren überein. Der untere Teil der Wurzel liefert einen wirksameren Saft als der obere. Der Unterschied ist nicht immer bedeutend, wird aber in manchen Fällen 2:1 (Serie 14). Die Wirksamkeit der oberen Rübenhälfte liegt gewöhnlich unter der der normalen Blätter, übersteigt sie jedoch manchmal (Serie 9), während der Saft der unteren Rübenhälfte gewöhnlich höher ist (Serie 9, 10, 14, 15, 16). In den Pflanzen, in denen das Wachstum aus irgendeinem Grunde unterdrückt wurde, zeigen die Wurzeln keinen abnorm hohen Oxydasengehalt, wie es die Blätter tun; dies wird aus späteren Experimenten ersichtlich. Serie 11 wurde ausgeführt, um festzustellen, daß die Samen regelmäßig einen verhältnismäßig hohen Oxydasengehalt besitzen.

Serie 11.

9. August 1911.

Samen von einer hohen, gesunden Pflanze wurden um 7^{30} a. m. in dem östlich der Station angrenzenden Garten gesammelt und sechs Versuche damit gemacht.

Tabelle XII.

Zeit der Manometerablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat					
		3	5	7	11	12	13
10^{30} a. m.	0′	0	0	0	0	0	0
11^{00} „	30′	– 2,30	– 2,00	– 2,45	– 1,90	– 2,25	– 2,30
11^{20} „	50′	– 3,20	– 3,10	– 3,40	– 3,10	– 3,10	– 3,15
11^{40} „	70′	– 4,00	– 3,90	– 4,10	– 4,00	– 4,05	– 4,20
12^{00} M.	90′	– 4,20	– 4,00	– 4,10	– 4,05	– 4,00	– 4,15

Mittel 4,08.

Aktivität des Samensaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,587 (Pyrogallol).

Die Resultate dieser Serie zeigen auch den hohen Oxydasengehalt der Samen im Vergleich zu den anderen Teilen der Pflanze.

Oxydasengehalt von Blättern und Wurzeln kranker Pflanzen.

Nach Aufklärung der Oxydasenverhältnisse in normalen gesunden Pflanzen widmete sich der Verfasser dem Studium von Blättern und Wurzeln kranker Zuckerrüben.

Serie 12.

22. August 1911.

Blattrollkranke Rüben und Kontrollen auf dem großen Gouvernementfelde Wilson Lane, Utah, 1 Uhr p. m. gesammelt. Alle Blätter mit Ausnahme der äußersten waren krank. Die letzteren waren sehr groß (25 bis 30 cm lang), während die inneren kranken Blätter bloß 10 bis 20 cm lang waren. Apparat 4 und 5 wurden für den Saft der kranken Blätter, 7 und 12 für den der gesunden, 13 und 15 für den der Wurzeln benutzt.

Tabelle XIII.

Zeit der Manometerablesung	Zeit	Temperatur zur Zeit der Messung	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat					
			Saft der kranken Blätter		Saft der gesunden Blätter		Wurzelsaft	
		°C	4	5	7	12	13	15
3^{05} p. m.	0′	40,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3^{25} „	20′	40,1	– 1,10	– 1,20	– 0,60	– 0,30	mißlungen	– 0,25
3^{45} „	40′	40,1	– 2,25	– 2,35	– 0,90	– 0,60	—	– 1,00
4^{05} „	60′	—	– 2,70	– 2,60	– 1,10	– 0,80	—	– 1,30
4^{25} „	80′	—	– 2,70	– 2,70	– 1,10	– 0,95	—	– 1,30

Aktivität des Saftes von blattrollkranken Blättern, ausgedrückt in Einheiten: 0,388 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes großer gesunder Blätter, ausgedrückt in Einheiten: 0,144 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes blattrollkranker Rüben, ausgedrückt in Einheiten: 0,187 (Pyrogallol).

Serie 12 zeigt große Abweichung im Oxydasengehalt gesunder und kranker Blätter derselben Pflanze. Die kleinen blattrollkranken Blätter waren beinahe 3mal so aktiv als die großen normalen. Es scheint kein merklicher Unterschied zwischen dem Oxydasengehalte der Wurzeln der gesunden und der blattrollkranken Pflanzen zu sein, wie ersichtlich ist, wenn man die Zahlen dieser Serie mit denen von Serie 8, 9, 10 und 13 vergleicht. Die Abweichung des Oxydasengehaltes der Pflanzen, deren Wachstum unterdrückt war, von dem der normalen und gesunden, ist nicht einfach dem Größenunterschiede der Blätter zuzuschreiben; kleine und dabei vollkommen gesunde Blätter (Serie 2) haben einen niedrigen Oxydasengehalt.

Serie 13.

21. August 1911.

Blattrollkranke Pflanzen mit ausgesprochenen Symptomen wurden um 7^{00} a. m. auf dem großen Felde der zeitweiligen Feldstation gesammelt. Die großen Außenblätter, die augenscheinlich normal waren, wurden entfernt. Apparat Nr. 5 und 11 wurden für den normaler, Nr. 7 und 12 für den Saft kranker Blätter benutzt. Die Aktivität der Wurzeln wurde in Nr. 13 und 15 studiert.

Tabelle XIV.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Temperat. zur Zeit d. Messung °C	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat					
			5	7	11	12	13	15
10^{30} a. m.	0′	40,0	0	0	0	0	0	0
11^{00} „	30′	40,1	−0,50	−1,40	−0,70	−1,00	−1,20	−0,50
11^{45} „	75′	40,1	−1,05	−2,30	−1,40	−2,40	−1,90	−1,30
12^{00} M.	90′	40,1	−1,20	−2,50	−1,35	−2,70	−2,20	−1,50
12^{15} p. m.	105′	40,1	−1,30	−2,50	−1,35	−2,80	−2,00	−1,50

Aktivität des Saftes gesunder Blätter, ausgedrückt in Einheiten: 0,191 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes blattrollkranker Blätter, ausgedrückt in Einheiten: 0,381 (Pyrogallol).

Aktivität des Wurzelsaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,252 (Pyrogallol).

Serie 14.

24. August 1911.

Pflanzen mit unterdrücktem Wachstum und große Kontrollpflanzen wurden auf Herrn Chandlers Farm um 1^{00} p. m. gesammelt. Die Wachstumsverkürzung der kleinen Pflanzen in Mitte der 4 bis 6mal so großen konnte nicht gedeutet werden.

Nr. 3 ergibt die Aktivität der Blätter der kleinen Pflanze, Nr. 5 die obere Wurzelhälfte derselben Pflanze, Nr. 7 die untere Wurzelhälfte derselben Pflanze; Nr. 11 Blätter der großen Kontrollpflanze, Nr. 12, die obere Wurzelhälfte derselben Pflanze, Nr. 13 die untere Wurzelhälfte derselben Pflanze.

Tabelle XV.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Temperat. zur Zeit d. Messung	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat					
		°C	3	5	7	11	12	13
2^{55} p. m.	0′	40,1	0	0	0	0	0	0
3^{25} „	30′	40,1	– 1,50	– 0,60	– 0,75	– 0,90	– 0,80	– 0,70
3^{45} „	50′	40,1	– 2,20	– 0,70	– 1,00	– 1,00	– 1,10	– 1,50
4^{05} „	70′	40,1	– 2,40	– 0,60	– 1,10	– 1,40	– 1,10	– 1,70
4^{25} „	90′	40,1	– 2,50	– 0,60	– 1,10	– 1,40	– 1,20	– 2,00
4^{45} „	110′	40,1	– 2,55	– 0,60	– 1,10	– 1,40	– 1,20	– 2,00

Aktivität des Blättersaftes der kleinen Pflanzen, ausgedrückt in Einheiten: 0,367 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes der oberen Wurzelhälfte, ausgedrückt in Einheiten: 0,086 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes der unteren Wurzelhälfte, ausgedrückt in Einheiten: 0,158 (Pyrogallol).

Aktivität des Blättersaftes großer Kontrollpflanzen, ausgedrückt in Einheiten: 0,201 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes der oberen Wurzelhälfte, ausgedrückt in Einheiten: 0,172 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes der unteren Wurzelhälfte, ausgedrückt in Einheiten: 0,288 (Pyrogallol).

Die Resultate in Tabelle XV zeigen, daß die kleinen, jedoch gesunden Pflanzen reicher an Oxydasen sind als die normalen, großen Nachbarpflanzen; bei den Wurzeln besteht das umgekehrte Verhältnis.

Serie 15.

25. August 1911.

Pflanzen mit verkürztem Wachstum und große Kontrollpflanzen auf Herrn Chandlers Farm gesammelt um 9^{00} a. m. Für die Wachstumsunterdrückung der kleinen Pflanzen war Wassermangel verantwort-

lich. Nr. 3 erhielt den Blättersaft der kleinen Wurzeln, Nr. 5 den Saft des oberen Drittels der kleinen Wurzeln, Nr. 7 den Saft des unteren Drittels der kleinen Wurzeln, Nr. 11 den Blättersaft der großen Kontrollpflanzen, Nr. 12 den Saft des oberen Drittels der großen Wurzeln und Nr. 13 den Saft des unteren Drittels der großen Wurzeln.

Tabelle XVI.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Temperat. zur Zeit d. Messung	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat					
		°C	3	5	7	11	12	13
10^{30} a. m.	0′	40,1	0	0	0	0	0	0
10^{50} „	20′	40,1	– 0,90	– 0,20	– 1,50	– 0,40	– 0,80	– 0,60
11^{10} „	40′	40,2	– 1,50	– 0,50	– 2,30	– 0,80	– 1,10	– 1,30
11^{30} „	60′	40,2	– 1,60	– 0,90	– 2,50	– 0,75	– 1,15	– 1,70
11^{45} „	75′	40,2	– 1,60	– 0,80	– 2,90	– 1,00	– 1,20	– 2,40
12^{00} M.	90′	40,2	– 1,60	– 0,90	– 2,80	– 1,00	– 1,20	– 2,50

Aktivität des Blättersaftes kleiner Pflanzen, ausgedrückt in Einheiten: 0,230 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes vom oberen Wurzeldrittel, ausgedrückt in Einheiten: 0,130 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes vom unteren Wurzeldrittel, ausgedrückt in Einheiten: 0,403 (Pyrogallol).

Aktivität des Blättersaftes großer Kontrollpflanzen, ausgedrückt in Einheiten: 0,144 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes vom oberen Wurzeldrittel, ausgedrückt in Einheiten: 0,173 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes vom unteren Wurzeldrittel, ausgedrückt in Einheiten: 0,360 (Pyrogallol).

Obgleich sich die Wurzeln der am Wachstum verhinderten Pflanzen nicht auffallend von den normalen unterscheiden, ist wieder ein merklicher Unterschied zwischen Blättern der zwei Pflanzenarten. Bei diesem Versuche zeigen die kleinen Blätter auch einen erhöhten Oxydasengehalt im Vergleiche mit normalen Blättern. In Übereinstimmung mit dem vorhergegangenen Versuche ist der untere Teil der Wurzel wirksamer als der obere.

Um hierüber weitere Beweise zu führen, wurden Serie 16 und 17 ausgeführt.

Serie 16.

25. August 1911.

Blattrollkranke Pflanzen wurden auf dem großen Stationsfelde gesammelt (Blätter 4 bis 12 cm lang, Rüben 100 bis 200 g). Nr. 3 und 6 wurden für die Blätter benutzt, Nr. 7 und 11 für die oberen Drittel der Wurzeln und Nr. 11 und 12 für die unteren Drittel der Wurzeln.

Tabelle XVII.

Zeit der Manometerablesung	Zeit	Temperat. zur Zeit d. Messung	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat					
		°C	3	5	7	11	12	13
3^{20} p. m.	0′	40,2	0	0	0	0	0	0
3^{40} „	20′	40,2	– 1,30	– 1,15	– 1,20	– 0,50	– 1,00	– 0,80
4^{00} „	40′	40,2	– 1,80	– 1,60	– 1,60	– 1,00	– 1,80	– 1,60
4^{20} „	60′	40,2	– 1,90	– 1,80	– 1,80	– 1,20	– 2,10	– 2,10
4^{40} „	80′	40,2	– 2,00	– 1,90	– 1,90	– 1,40	– 2,50	– 2,60
5^{00} „	100′	40,1	– 2,05	– 1,90	– 1,90	– 1,70	– 3,20	– 3,20
5^{15} „	115′	40,1	– 2,10	– 1,95	– 2,00	– 1,60	– 3,30	– 3,35

Aktivität des Blättersaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,288 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes der oberen Drittel der Wurzeln, ausgedrückt in Einheiten: 0,259 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes der unteren Drittel der Wurzeln, ausgedrückt in Einheiten: 0,475 (Pyrogallol).

Serie 17.

26. August 1911.

Blattrollkranke Pflanzen auf großem Stationsfelde um 1^{00} p. m. gesammelt. Nr. 3 und 5 erhielten den Saft des unteren Fünftels der Wurzeln und Nr. 7 und 12 den Saft des oberen Fünftels der Wurzeln.

Tabelle XVIII.

Zeit der Manometerablesung	Zeit	Temperat. zur Zeit d. Messung	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat			
		°C	3	5	7	12
3^{00} p. m.	0′	40,1	0	0	0	0
3^{20} „	20′	40,2	– 0,55	– 0,80	– 0,70	– 0,60
3^{40} „	40′	40,2	– 1,50	– 1,50	– 1,50	– 1,30
4^{00} „	60′	40,2	– 2,30	– 2,30	– 2,10	– 1,60
4^{20} „	80′	40,2	– 2,75	– 2,70	– 2,30	– 2,00
4^{40} „	100′	40,2	– 3,40	– 3,30	– 2,30	– 2,00
5^{00} „	120′	40,2	– 3,45	– 3,50	– 2,40	– 2,00

Aktivität des Saftes des unteren Fünftels der Wurzeln, ausgedrückt in Einheiten: 0,504 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes des oberen Fünftels der Wurzeln, ausgedrückt in Einheiten: 0,317 (Pyrogallol).

Serie 17 mit vorherigen Beobachtungen zeigt, daß die Konzentration der Oxydasen in dem unteren Teile der Wurzel 2 bis 3mal größer ist als in dem oberen Teile derselben.

Serie 18.

3. August 1911.

Blattrollkranke Pflanzen. Wurzeln wurden über den Winter gespeichert. Die Pflanzen zeigten keine Anzeichen von Blattrollkrankheit im Jahre 1910. Die in diesen Versuchen benutzten gehörten zum Typus genannt „Trotzer" i. e., sie entwickelten keinen Samenstengel und vermochten nicht zu blühen. Sie zeigten auch merkliches Rollen der Blätter. Die Pflanzen wurden um 8^{00} a. m. im Garten, östlich der Feldstation angrenzend, gesammelt.

Nr. 3 und 5 enthielten den Saft der Blätter und Nr. 7 und 11 denjenigen der Wurzeln.

Tabelle XIX.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat			
		3	5	7	11
10^{00} a. m.	0′	0	0	0	0
10^{30} „	30′	−1,10	−0,80	−0,40	−0,65
11^{30} „	90′	−2,10	−1,90	−0,80	−0,95
11^{50} „	110′	−2,80	−2,70	−1,20	−1,35
12^{10} p. m.	130′	−3,40	−3,55	−1,50	−1,55
12^{20} „	140′	−3,35	−3,55	−1,50	−1,45

Aktivität des Blättersaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,496 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes der Wurzeln, ausgedrückt in Einheiten: 0,216 (Pyrogallol).

Diesen Resultaten gemäß zeigen die Blätter der blattrollkranken Pflanzen wieder einen höheren Oxydasengehalt, als in Verbindung mit gesunden Pflanzen beobachtet wurde. Dasselbe hat sich auch bei Serie 19 erwiesen.

Serie 19.

4. August 1911.

Die in diesem Versuche benutzten Pflanzen hatten dasselbe Aussehen und Geschichte als jene in Serie 18. Sie waren an derselben Stelle um 8^{00} a. m. gesammelt. Nr. 3 und 5 erhielten den Blättersaft, Nr. 7 und 11 den Saft der Wurzeln.

Tabelle XX.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat			
		3	5	7	11
10^{30} a. m.	0′	0	0	0	0
10^{45} „	15′	−1,25	−1,00	−0,50	−0,60
11^{00} „	30′	−1,65	−1,80	−0,70	−0,65
11^{15} „	45′	−2,10	−2,35	−1,00	−0,90
11^{25} „	55′	−2,90	−2,80	−1,20	−1,10
11^{45} „	75′	−3,10	−3,10	−1,30	−1,35
12^{00} M.	90′	−3,05	−3,15	−1,35	−1,20

Aktivität des Blättersaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,446 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes der Wurzeln, ausgedrückt in Einheiten: 0,183 (Pyrogallol).

Serie 20.

5. August 1911.

Blattrollkranke Pflanzen, im Garten der Feldstation östlich angrenzend, wurden um 7³⁰ a. m. gesammelt und benutzt. Die Wurzeln dieser Pflanzen waren über den Winter gespeichert und zeigten keine Symptome der Krankheit im Jahre 1910. Die Pflanzen hatten Samenstengel und trugen Samen. Nr. 3 und 5 erhielten den Saft der Blätter, Nr. 7 und 12 jenen der Wurzeln.

Tabelle XXI.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat			
		3	5	7	12
10^{45} a. m.	0′	0	0	0	0
11^{10} "	25′	−1,35	−1,50	−0,80	−0,60
11^{30} "	45′	−2,10	−2,00	−1,30	−1,80
11^{50} "	65′	−2,80	−2,75	−1,70	−2,00
12^{10} p. m.	85′	−2,85	−2,70	−2,20	−2,10
12^{25} "	100′	−2,90	−2,70	−2,20	−2,30

Aktivität des Blättersaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,403 (Pyrogallol).

Aktivität des Saftes der Wurzeln, ausgedrückt in Einheiten: 0,324 (Pyrogallol).

Serie 20 zeigt, daß auch in samentragenden, blattrollkranken Zuckerrüben der Oxydasengehalt ein hoher ist. Es erscheint interessant, den Oxydasengehalt von Pflanzen zu bestimmen, die „Trotzer"-Eigenheiten aufweisen, sonst aber gesund und normal sind.

Serie 21.

7. August 1911.

„Trotzer"-Rüben, sonst normal. An der östlichen Seite der Feldstation um 12^{30} p. m. gesammelt. Nr. 3 und 5 sind für die Blätter, Nr. 7 und 11 für die Wurzeln benutzt.

Tabelle XXII.

Zeit der Manometer-ablesung	Zeit	Manometerablesungen, ausgedrückt in Zentimetern des Quecksilbers im Apparat			
		3	5	7	11
2^{30} p. m.	0′	0	0	0	0
3^{00} "	30′	−1,60	−1,25	−1,00	−1,10
3^{20} "	50′	−2,30	−2,10	−1,60	−1,50
3^{40} "	70′	−3,00	−3,10	−1,50	−1,55
4^{00} "	90′	−3,15	−3,05	−1,70	−1,60

Aktivität des Blättersaftes, ausgedrückt in Eineiten: 0,446 (Pyrogallol).

Aktivität des Wurzelsaftes, ausgedrückt in Einheiten: 0,237 (Pyrogallol).

Tabelle XXIII.

Nr. der Probe	Zustand	Teil der benutzten Pflanze	Form	Sammelstelle	Tag im August	Zeit Stunde	Trockenrückstand im frischen Material			Asche				Stickstoff		Saccharose, auf Trockenrückstand berechnet	Oxydasen	
							alkohollöslich	alkoholunlöslich	insgesamt	im alkohollöslichen Material auf Trockenrückstand berechnet	im getrockneten alkoholunlöslichen Material	im alkoholunlösl. Material auf Trockenrückstand berechnet	Gesamtasche auf Trockenrückstand berechnet	im alkoholunlösl. Material	auf Trockenrückstand berechnet		Einheiten in frischem Material	Einheiten × 100 / Trockenrückstand
1	Blattrollkrank; keine Symptome im Vorjahre; gespeichert. Trotzer	Blätter	Ganze Blätter	Garten östlich der Station	3.	8^{00} a. m.	5,10	11,24	16,34	1,28	18,69	12,85	14,13	5,36	3,69	1,84	0,496	3,02
2		Wurzeln	Würfel, 1 ccm	do.	3.	8^{00} a. m.	8,10	6,41	14,51	0,895	8,85	3,90	4,80	0,76	0,335	37,40	0,216	1,49
3	do.	Blätter	Blätter, ganz	do.	4.	8^{00} a. m.	4,10	11,04	15,14	2,18	21,20	15,46	17,64	4,91	3,58	1,19	0,446	2,94
4	do.	Wurzeln	Würfel, 1 ccm	do.	4.	8^{00} a. m.	10,05	6,48	16,53	1,09	7,96	3,12	4,21	0,90	0,352	48,10	0,183	1,11
5	do.	Blätter	Ganz	do.	5.	7^{30} a. m.	3,90	12,64	16,54	2,18	35,53	27,18	29,36	2,95	2,26	0,41	0,403	2,44
6	do.	Wurzeln	Brei	do.	5.	7^{30} a. m.	9,40	6,56	15,96	0,50	10,54	4,33	4,83	0,83	0,341	47,50	—	—
7	do.	do.	Saft	do.	5.	7^{30} a. m.	—	1,06	—	—	45,32	—	—	—	—	—	0,324	—
8	Scheinbar normal; über den Winter gespeichert, „Trotzer".	Blätter	Brei	do.	7.	12^{30} p. m.	3,80	14,47	18,27	3,04	24,04	19,08	22,12	4,27	3,38	0,77	—	—
9	do.	Wurzeln	do.	do.	7.	12^{30} p. m.	9,20	2,09	11,29	1,33	11,09	2,06	3,39	1,07	0,20	68,20	—	—
10	do.	Blätter	Saft	do.	7.	12^{30} p. m.	—	8,74	—	—	32,38	—	—	5,60	—	—	0,446	—
11	do.	Wurzeln	do.	do.	7.	12^{30} p. m.	—	1,00	—	—	35,55	—	—	—	—	—	0,237	—
12	Normal	Blätter	Brei	Feld östlich Fabrik begrenzend	15.	8^{00} a. m.	7,00	10,83	17,83	2,97	26,11	15,85	18,82	3,11	1,89	0,84	—	—
13	do.	do.	Saft	do.	15.	8^{00} a. m.	—	7,04	—	—	33,58	—	—	4,63	—	—	—	—
14	do.	Wurzeln	Brei	do.	15.	8^{00} a. m.	15,50	6,29	21,79	0,735	7,62	2,20	2,94	1,36	0,392	64,20	—	—

15	do.	do.	Saft	do.	15.	8^{00} a. m.	—	1,10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	do.	Blätter	Brei	Chandlers Feld	16.	5^{00} a. m.	3,00	9,55	12,55	3,98	19,80	15,08	19,06	5,31	4,05	1,24	—	—
17	do.	do.	Saft	do.	16.	5^{00} a. m.	—	5,88	—	—	24,70	—	—	7,61	—	—	—	—
18	do.	Wurzeln	Brei	do.	16.	5^{00} a. m.	—	5,52	—	—	9,12	—	—	1,42	—	—	—	—
19	do.	do.	Saft	do.	16.	5^{00} a. m.	—	0,44	—	—	24,35	—	—	—	—	—	—	—
20	Scheinbar gesund; samentragend; über den Winter gespeichert.	Blätter	Brei	Garten östlich der Station	16.	10^{00} a. m.	4,50	13,20	17,70	3,70	27,76	20,65	24,35	3,28	2,44	1,58	—	—
21	do.	do.	Saft	do.	16.	10^{00} a. m.	—	9,08	—	—	37,42	—	—	4,27	—	—	—	—
22	do.	Wurzeln	Brei	do.	16.	10^{00} a. m.	11,15	7,70	18,85	0,45	10,92	4,47	4,92	1,39	0,567	46,45	—	—
23	do.	do.	Saft	do.	16.	10^{00} a. m.	—	1,76	—	—	33,82	—	—	—	—	—	—	—
24	do.	Blätter	Brei	do.	17.	7^{30} a. m.	3,50	11,46	14,96	1,90	28,42	21,79	23,69	3,09	2,37	1,44	—	—
25	do.	do.	Saft	do.	17.	7^{30} a. m.	—	6,18	—	—	35,52	—	—	—	—	—	—	—
26	do.	Wurzeln	Brei	do.	17.	7^{30} a. m.	7,40	5,89	13,29	1,77	11,78	5,22	6,99	1,08	0,48	35,62	—	—
27	do.	do.	Saft	do.	17.	7^{30} a. m.	—	1,00	—	—	33,06	—	—	—	—	—	—	—
28	do.	Samen	Ganz	do.	17.	7^{30} a. m.	3,45	24,50	27,95	0,896	7,85	6,89	7,79	—	—	0,48	—	—
29	do.	Blätter	Saft	do.	18.	9^{00} a. m.	3,20	8,08	11,28	3,54	37,05	26,60	30,14	2,18	1,58	1,48	0,230	2,04
30	do.	Blütenschäfte und Blattstiele	do.	do.	18.	9^{00} a. m.	4,10	3,84	7,94	9,08	38,36	18,56	27,64	—	—	5,60	0,173	2,18
31	do.	Samen	do.	do.	18.	9^{00} a. m.	3,60	4,40	8,00	1,15	22,44	12,35	13,50	—	—	4,27	0,590	7,38
32	do.	Obere Hälfte der Wurzeln	do.	do.	18.	9^{00} a. m.	14,70	0,90	15,60	1,38	24,01	1,38	2,76	—	—	83,95	0,144	0,92
33	do.	Unt. Hälfte der Wurzeln	do.	do.	18.	9^{00} a. m.	12,00	0,80	12,80	4,15	30,63	1,92	6,07	—	—	78,00	0,237	1,84
34	Blattrollkrank	Wurzeln	Brei	Großes Regierungsfeld	21.	8^{00} a. m.	12,40	6,53	18,93	1,08	11,59	3,99	5,07	1,71	0,589	55,70	—	—
35	do.	do.	Saft	do.	21.	8^{00} a. m.	15,60	0,96	16,56	2,30	27,99	1,62	3,92	—	—	71,90	0,252	1,52
36	Gesunde große Blätter	Große Blätter	Brei	Chandlers Feld	22.	7^{00} a. m.	3,90	9,35	13,25	2,11	18,32	12,95	15,06	4,77	3,37	0,92	—	—
37	do.	do.	Saft	do.	22.	7^{00} a. m.	4,00	5,50	9,50	5,75	22,98	13,30	19,05	7,19	4,15	1,17	0,184	1,94
38	Pflanze mit klein. Blättern; sonst normal.	Kleine Blätter	do.	do.	22.	7^{00} a. m.	3,90	5,80	9,70	4,02	29,32	17,50	21,52	—	—	—	0,499	5,15
39	Blattrollkrank	Wurzeln	Brei	Großes Regierungsfeld	22.	1^{00} p. m.	13,90	7,02	20,92	6,94	10,38	3,48	10,42	1,85	0,621	54,10	—	—

Tabelle XXIII (Fortsetzung).

Nr. der Probe	Zustand	Teil der benutzten Pflanze	Form	Sammelstelle	Tag im Augut	Zeit Stunde	Trockenrückstand im frischen Material: alkohollöslich	Trockenrückstand im frischen Material: alkoholunlöslich	Trockenrückstand im frischen Material: insgesamt	Asche: im alkohollöslichen Material auf Trockenrückstand berechnet	Asche: im getrockneten alkoholunlöslichen Material	Asche: im alkoholunlösl. Material auf Trockenrückstand berechnet	Asche: Gesamtasche auf Trockenrückstand berechnet	Stickstoff: im alkoholunlösl. Material	Stickstoff: auf Trockensubstanz berechnet	Saccharose, auf Trockenrückstand berechnet	Oxydasen: Einheiten in frischem Material	Oxydasen: Einheiten × 100 / Trockenrückstand
40	Blattrollkrank	Wurzeln	Saft	Großes Regierungsfeld	22.	1^{00} p. m.	16,45	1,14	17,59	1,54	21,55	1,39	2,93	—	—	80,25	0,184	1,05
41	do.	Blätter	Brei	do.	22.	1^{00} p. m.	4,20	10,07	14,27	4,10	19,11	13,50	17,60	4,81	3,40	0,52	—	—
42	do.	do.	Saft	do.	22.	1^{00} p. m.	3,70	6,68	10,38	3,56	19,88	12,82	16,38	6,57	4,24	0,99	0,388	3,74
43	Gesunde große Pflanze	Blätter, 30—50 cm lg.	do.	Chandlers Feld	23.	1^{00} p. m.	4,50	6,88	11,38	4,22	28,06	16,98	21,20	6,18	3,74	0,62	—	—
44	do.	Ob. Wurzelhälfte	do.	do.	23.	1^{00} p. m.	15,90	0,66	16,56	1,06	20,21	0,806	1,87	—	—	57,00	—	—
45	do.	Unt. Wurzelhälfte	do.	do.	23.	1^{00} p. m.	16,85	0,72	17,57	1,82	23,52	0,96	2,78	—	—	75,00	—	—
46	do.	Blätter	do.	do.	23.	1^{00} p. m.	4,58	7,23	11,81	1,72	25,20	15,42	17,14	7,02	4,30	1,61	—	—
47	do.	Ob. Drittel der Wurzeln von Nr. 46	do.	do.	23.	1^{00} p. m.	14,25	0,92	15,17	1,75	26,56	1,61	3,36	—	—	82,00	—	—
48	do.	Unt. Drittel der Wurzeln von Nr. 46	do.	do.	23.	1^{00} p. m.	15,15	0,90	16,05	2,24	29,11	1,63	3,87	—	—	77,00	—	—
49	Blattrollkrank	Blätter	do.	Regierungsfeld	25.	2^{00} p. m.	4,95	6,42	11,37	8,80	26,82	15,22	24,02	5,25	2,96	0,49	0,288	2,54
50	Gesunde Pflanzen, samentragend.	Samen	do.	Garten östlich der Station	26.	2^{00} p. m.	4,90	6,40	11,30	6,55	23,53	13,35	19,90	4,69	2,65	0,97	0,583	5,16
51	Große gesunde Pflanzen	Große Blätter	do.	Feld östlich der Fabrik	30.	6^{10} a. m.	3,10	6,94	10,04	1,60	33,78	23,35	24,95	5,05	3,48	1,48	0,260	2,59
52	do.	Dieselben wie Nr. 51	do.	do.	30.	9^{30} a. m.	3,65	8,06	11,71	2,38	34,32	23,62	26,00	4,61	3,17	2,03	0,260	2,22
53	do.	do.	do.	do.	30.	2^{45} p. m.	5,38	10,15	15,53	2,26	31,05	20,30	22,50	5,89	3,84	3,06	0,310	2,00

Es scheint demnach, daß die Blätter der gesunden „Trotzerrüben" auch einen verhältnismäßig hohen Oxydasengehalt aufweisen. Der erhöhte Oxydasengehalt der Pflanzen mit Wachstumsverkürzung muß verzögertem, und nicht unvollkommenem Wachstum allein zugeschrieben werden. Die Pflanzen in Serie 2 waren kleiner als die in irgendeinem anderen Versuche benutzten, waren es aber aus natürlichen Ursachen; sie entwickelten sich schließlich zu großen und gesunden Pflanzen, und der Oxydasengehalt ihrer Blätter entspricht dem der Treibhauspflanzen und ist nahezu so groß als der der Feldpflanzen.

Die Pflanzen mit Wachstumsverzögerung dagegen zeigen ein ganz anderes Verhalten; ihre Blätter haben eine zwei- bis dreimal so große Oxydationsfähigkeit als die der normalen Pflanzen.

Chemische Analyse der im Felde gesammelten Proben.

Wie schon erwähnt, wurden Proben von gesunden und kranken Zuckerrüben gesammelt und nach Washington zum Zwecke chemischer Analyse gebracht. Vom Safte wurden 100 g mit 150 ccm 95 $^0/_0$ igem Alkohol aufbewahrt; in manchen Fällen wurde der Rüben- oder Blätterbrei mit 2 Teilen Alkohol konserviert.

Wassergehalt, Asche, Gesamtstickstoff und Saccharose wurden in den meisten Proben bestimmt; leider war in manchen Fällen das Material unzureichend zur Vollendung der Analyse. Die Resultate sind aus Tabelle XXIII ersichtlich.

Die Zahlen, abgesehen vom Oxydasengehalt, zeigen keinen chemischen Unterschied zwischen den gesunden und kranken Pflanzen. Die Oxydasenunterschiede sind aus den vorletzten zwei Kolumnen ersichtlich.

Zusammenfassung.

Die hier angeführten Resultate bestätigen vollkommen die bereits früher vom Verf. mit Treibhausmaterial erhaltenen. Die Blätter der blattrollkranken Pflanzen besitzen einen zwei- bis dreimal so großen Oxydasengehalt als die gesunden und normalen. Zwischen den Wurzeln der beiden Pflanzensorten konnten keine Unterschiede bemerkt werden. Auch in Zuckerrüben, deren Wachstum durch andere Gründe unterdrückt war, konnte dieser

abnorm hohe Oxydasengehalt gefunden werden. Der Unterschied im Oxydasengehalt der Blätter verschiedener Pflanzen ist nicht einfach eine Funktion ihrer Größe, da ganz junge und gesunde Blätter sich in dieser Beziehung normal verhalten. Wenn bloß eine normale Funktion der Pflanzen, wie die Samenbildung, unterdrückt ist, zeigt sich dies auch in erhöhtem Oxydasengehalt.

Die allgemeinste Schlußfolgerung aus diesen Beobachtungen ist, daß sich abnorme Wachstumsstörungen bei der Zuckerrübe durch Oxydasenvermehrung im Blättersafte derselben geltend machen, oder anders ausgedrückt, daß sie zu Veränderungen des Blättersaftes führen, durch die die Pyrogallol oxydierende Oxydase wirksamer wird.

Solche Anhäufungen von Oxydase in Pflanzensäften unter pathologischen Zuständen wurden wiederholt beobachtet. Woods bemerkte sie bei einer Tabakkrankheit, Sorauer bei der Blattrollkrankheit der Kartoffel. Weitere Versuche müssen zeigen, ob die Oxydasen, die die genannten Verff., sowie der Verf. dieser Arbeit studierten, in direkter Beziehung zu den von Palladin und seiner Schule bei der Atmung der Pflanzen so wichtig befundenen Enzymen stehen. Wenn dies der Fall ist, scheint es wahrscheinlich, daß ein Anstieg in der Oxydasenkonzentration zu erhöhtem Stoffwechsel in den Zellen führt. Man wäre dann geneigt, solche Pflanzen als im „Fieber“ befindlich anzusehen.

Die Verteilung der Oxydase, die die Oxydation von Pyrogallol bewirkt, wurde bei der Zuckerrübe untersucht. Der Saft aller Teile wurde als wirksam befunden; die Samen sind am wirksamsten, die Blätter und Wurzeln folgen. Der untere Teil der Wurzel ist wirksamer als der obere. Der Saft der Blütenschäfte und Blattstiele ist beinahe so aktiv wie der Blättersaft; der Stengel steht an letzter Stelle in bezug auf seine Wirksamkeit. Bei den grünen Teilen der Pflanze scheint ein allgemeiner Parallelismus zwischen Oxydasenaktivität und Farbenintensität zu herrschen.

Synthetische β-Glucoside der Terpenalkohole.

Von

J. Hämäläinen.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Helsingfors.)

(Eingegangen am 11. Februar 1913.)

II.

Glucoside mit bicyclischen Aglykonen.

In einer früheren Abhandlung [1]) wurden Glucoside olefinischer und monocyclischer Terpenalkohole beschrieben. Jetzt möchte ich über die Synthese einiger Glucoside bicyclischer Alkohole berichten. Unter diesen kommt dem Sabinol- und l-Borneol-glucosid neben medizinisch-chemischer auch phytochemische Bedeutung zu, indem dieselben im Pflanzenreich vorkommen können.

Sabinol-tetraacetyl-d-glucosid,



$C_{10}H_{15}O \cdot C_6H_7O_4(COCH_3)_4$.

30 g Sabinol ($[\alpha]_D^{20°} = +9{,}24°$) in 100 ccm absoluten Äthers wurden mit 4,5 g Acetobromglucose und 2,2 g Silbercarbonat 3 Tage auf der Maschine geschüttelt. Darauf wurden 5,5 g Acetobromglucose und 3 g Silbercarbonat eingetragen. Nach 3 Tagen wurden wieder 3,5 g Acetobromglucose und 2,3 g Silbercarbonat und schließlich nach weiteren 3 Tagen noch 6,5 g Acetobromglucose und 3,5 g Silbercarbonat hinzugefügt und mit dem Schütteln ca. 4 Tage fortgefahren.

Die trübe Lösung wurde durch ein doppeltes Filter filtriert, der Äther spontan verdunsten gelassen und der dickflüssige Rückstand so lange mit Wasserdampf destilliert, bis alles Sabinol übergegangen war. Die im Destillierkolben zurückgebliebene,

---

[1]) Diese Zeitschr. 49, 398, 1913.

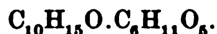
bräunliche, harte Masse wurde mit Aceton aufgenommen und von Silberresten abfiltriert. Beim allmählichen Verdunsten der Lösung blieb der rohe Acetylkörper als gelblicher Krystallbrei zurück, der abgesaugt und zur völligen Reinigung aus siedendem verdünnten Alkohol umkrystallisiert wurde. Ausbeute an exsiccatortrockener und analysenreiner Substanz 6,9 g oder, auf die angewandte Menge der Acetobromglucose berechnet, 29,4% der Theorie.

0,142 g Substanz gaben 0,3116 g CO_2 und 0,0882 g H_2O.

Ber. für $C_{24}H_{34}O_{16}$ (482,272):	Gef.:
C = 59,72%	59,76%
H = 7,11%	6,94%.

Die Acetylverbindung krystallisiert in prachtvollen, bis $1^1/_2$ cm langen, glänzendweißen, biegsamen Nadeln, schmilzt bei 121° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit, löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform, Benzol und Essigester, leicht in Methylalkohol und Äther, etwas schwerer in Äthylalkohol, sehr schwer in Wasser und gar nicht im Petroläther.

Sabinol-d-glucosid.



$C_{10}H_{15}O.C_6H_{11}O_5$.

2 g Tetraacetylglucosid wurden in 30 ccm Alkohol gelöst und in die Lösung von 7 g frisch umkrystallisiertem, wasserhaltigem Bariumhydroxyd in 150 ccm Wasser allmählich unter Umrühren eingetragen. Der Acetylkörper fiel hierbei milchig aus. Die Emulsion wurde unter zeitweiligem Schütteln bei 50 bis 60° gehalten. Nach ca. 12 Stunden war alles in Lösung gegangen. In die warme Lösung wurde Kohlensäure so lange eingeleitet, bis das Bariumcarbonat sich gut absetzte. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mehrmals mit Alkohol ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde mit absolutem Alkohol ausgekocht und das Filtrat im Vakuum verdunstet. Hierbei blieb das Glucosid krystallinisch zurück. Zur völligen Reinigung wurde es in siedendem Essigester gelöst und nach Zugabe von einigen Tropfen Wasser nebst Ligroin bis zur leichten Trübung, unter Reiben mit einem Glasstabe, allmählich stark abgekühlt. Hierdurch schied sich das Glucosid in farb-

losen Nadeln aus. Ausbeute an reiner Substanz 1,18 g oder 86,1 % der Theorie.

Das krystallwasserhaltige Glucosid bildet farblose, biegsame, sehr bitter schmeckende Nadeln, schmilzt bei 65 bis 68,5° (korr.) unter Aufschäumen zu einer farblosen Flüssigkeit und verliert, im Vakuum erwärmt, sein Krystallwasser.

0,5144 g wasserhaltigen Glucosids verloren, im Vakuum bei 8 mm und 56° zur Gewichtskonstanz getrocknet, 0,0268 g an Gewicht.

Ber. f. $C_{16}H_{26}O_6 + H_2O$:	Gef.:
$H_2O = 5,42\%$	5,21 %.

0,1298 g wasserfreien Glucosids gaben 0,2902 g CO_2 und 0,0964 g H_2O.

Ber. für $C_{16}H_{26}O_6$ (314,208):	Gef.:
C = 61,11 %	60,98 %
H = 8,34 %	8,31 %.

Zur optischen Bestimmung wurde das wasserfreie Glucosid in absolutem Alkohol gelöst.

Substanz: 0,1943 g; Gesamtgewicht der Lösung: 8,7023 g; $d^{20}/_4 = 0,7998$; $l = 1$ dcm; $p = 2,2327$; $\alpha = -0,60^\circ$ (bei 20° und Na-Licht)

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = -33,60^\circ.$$

Das wasserfreie Glucosid hat keinen konstanten Schmelzpunkt. Im Capillarrohr erhitzt, beginnt es gegen 66° (korr.) zu sintern und ist erst gegen 91° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit mit einem deutlichen Meniscus geschmolzen. Es löst sich leicht in Wasser, Aceton, Chloroform, Essigester, Methyl- und Äthylalkohol, schwerer in Äther, schwer in Benzol und kaum in Petroläther.

Von verdünnten Mineralsäuren wird es in der Siedehitze rasch gespalten. Ebenso wirkt Emulsin, wie aus folgendem Versuche hervorgeht. Eine Lösung von 0,0716 g wasserfreiem Glucosid in 10 ccm Wasser wurde mit 0,07 g Emulsin und einigen Tropfen Chloroform bei 37° aufbewahrt. Nach 48 Stunden wurde die Lösung mit Natriumacetat gefällt und filtriert. Die Titration mit Fehlingscher Lösung ergab, daß das Filtrat 0,031 g Glucose enthielt, während 0,041 g entstehen konnten. Das entspricht 75,5 % der Theorie.

d-Camphenilol-tetraacetyl-d-glucosid,



$C_9H_{15}O.C_6H_7O_5(COCH_3)_4$.

20 g d-Camphenilol ($[\alpha]_D^{20°} = +16,58°$) in 75 ccm absoluten Äthers wurden auf der Maschine mit Acetobromglucose bzw. Silbercarbonat geschüttelt, und zwar: 3 Tage mit 4,5 g Acetobromglucose und 4 g Silbercarbonat, am 5. Tage wurde die gleiche Menge von Acetobromglucose nebst 5 g Silbercarbonat, am achten je 4,5 g eingetragen und am elften der Prozeß unterbrochen.

Die ätherische Lösung wurde filtriert und der Äther verjagt. Der Rückstand erstarrte krystallinisch. Derselbe wurde vom überschüssigen Camphenilol durch Wasserdampf befreit, in Aceton gelöst und von Silberresten abfiltriert. Beim spontanen Verdunsten der Lösung kam der Acetylkörper krystallinisch heraus. Zur völligen Reinigung wurden die Krystalle in siedendem Alkohol gelöst, mit heißem Wasser bis zur leichten Trübung versetzt und allmählich abgekühlt. Auf diese Weise wurden farblose, schöne Nadeln erhalten. Ausbeute an exsiccatortrockener und analysenreiner Substanz 5 g oder, auf die Menge der Acetobromglucose berechnet, 32,4 % der Theorie.

0,1524 g Substanz gaben 0,3276 g CO_2 und 0,0963 g H_2O.

Ber. für $C_{23}H_{34}O_{10}$ (470,272):	Gef.:
C = 58,69 %	58,63 %
H = 7,29 %	7,07 %

Das Tetraacetylglucosid bildet glänzend-weise, biegsame Nadeln, die eine Länge von etwa 2 cm erreichen können und bei 128,5 bis 130° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit schmelzen. Es löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform, Essigester und Benzol, leicht in Methylalkohol und Äther, schon etwas schwerer in Äthylalkohol. In Wasser ist es sehr schwer löslich und in Petroläther praktisch unlöslich.

d-Camphenilol-d-glucosid,



$C_9H_{15}O.C_6H_{11}O_5$.

Zur Abspaltung der Acetylgruppen wurden 3,5 g Tetraacetyl-glucosid mit 15 g Bariumhydroxyd in 240 g Wasser und 75 ccm Alkohol bei 50 bis 60° behandelt. Die durch Kohlensäure vom Baryt befreite Lösung wurde im Vakuum zur

Trockne verdampft. Der farblose, krystallinische Rückstand wurde mit absolutem Alkohol ausgekocht und das Filtrat wiederum unter vermindertem Druck verdunstet. Hierbei fiel das Glucosid zuerst ölig aus, erstarrte aber allmählich zu einem Krystallbrei. Zur Reinigung wurden die Krystalle aus siedendem Essigester unter Zugabe von Ligroin bis zur leichten Trübung und starkem Abkühlen umkrystallisiert; Ausbeute an exsiccatortrockener und analysenreiner Substanz 2,1 g oder 88,2°/₀ der Theorie.

Das Camphenilol-glucosid krystallisiert in farblosen, biegsamen, glänzenden, bitter schmeckenden Nadeln, enthält 1 Mol. Krystallwasser und schmilzt bei 95 bis 98° (korr.) unter Aufschäumen zu einer farblosen Flüssigkeit. Das Krystallwasser geht teilweise schon bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuum ab, indem die Krystalle ihren Glanz verlieren und an Gewicht abnehmen. Rasch verschwindet es im Vakuum bei 8 mm und 56°: 0,7382 g wasserhaltigen Glucosids verloren in 8 Stunden zur Gewichtskonstanz getrocknet 0,0410 g Wasser.

Ber. für $C_{15}H_{26}O_6 + H_2O$:	Gef.:
$H_2O = 5{,}63\,\%$	$5{,}55\,\%$.

0,1286 g wasserfreien Glucosids gaben 0,2814 g CO_2 und 0,0998 g H_2O.

Ber. für $C_{15}H_{26}O_6$ (302,208):	Gef.:
$C = 59{,}56\,\%$	$59{,}68\,\%$
$H = 8{,}67\,\%$	$8{,}68\,\%$.

Zur optischen Bestimmung wurde das wasserfreie Glucosid in absolutem Alkohol gelöst. Substanz: 0,2372 g; Gesamtgewicht der Lösung: 9,1412 g; $d^{20}/_4 = 0{,}8017$; $p = 2{,}5948$ $l = 1$ dcm; $\alpha = -0{,}53^0$ (bei 20° und Na-Licht)

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = -25{,}47^0.$$

Das wasserfreie Glucosid hat keinen scharfen Schmelzpunkt. Es beginnt gegen 107 bis 111° (korr.) zu einer trüben Masse zu sintern und ist erst gegen 143° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit mit einem deutlichen Meniscus geschmolzen. Es löst sich sehr leicht in Methylalkohol, leicht in Aceton, Chloroform, Essigester, Äthylalkohol, Wasser und Äther, schwer in Benzol und fast gar nicht in Petroläther.

Durch verdünnte Mineralsäuren wird das Glucosid beim Kochen rasch gespalten. Emulsin bewirkt auch Hydrolyse, obwohl träger, wie folgender Versuch zeigt: In die Lösung von 0,0765 g wasserfreiem Glucosid in 10 ccm Wasser wurden einige Tropfen Chloroform und 0,075 g Emulsin eingetragen. Nach 48stündiger Einwirkung bei 37° ergab die Titration mit Fehlingscher Lösung 0,010 g Glucose, während 0,0454 g entstehen konnten. Das entspricht 22 % der Theorie.

l-Fenchyl-tetraacetyl-d-glucosid,



$C_{10}H_{17}O.C_6H_7O_5(COCH_3)_4$.

Eine Lösung von 60 g l-Fenchylalkohol ($[\alpha]_D^{20°} = -5,76°$) in 100 ccm absoluten Äthers wurde mit insgesamt 39 g Acetobromglucose und ebensoviel Silbercarbonat, die in 3, etwa gleichgroßen Portionen je nach 4 Tagen eingetragen wurden, auf der Maschine geschüttelt.

Der rohe, vom überschüssigen Fenchylalkohol durch Wasserdampf befreite Acetylkörper wurde mit Aceton aufgenommen. Beim spontanen Verdunsten der Lösung fiel das Tetraacetylglucosid in gelblichen Nadeln aus. Zur völligen Reinigung wurden dieselben aus heißem, verdünntem Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute an exsiccatortrockener und analysenreiner Substanz 13 g oder, auf die angewandte Menge der Acetobromglucose berechnet, 22,5 % der Theorie.

0,1773 g Substanz gaben 0,3860 g CO_2 und 0,1162 g H_2O.

Ber. für $C_{24}H_{36}O_{10}$ (484,288):	Gef.:
C = 59,47 %	59,38 %
H = 7,49 %	7,33 %.

Das Tetraacetyl-glucosid bildet lange, farblose, biegsame Nadeln und schmilzt bei 119 bis 121,5° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit. Es löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform, Benzol, Essigester und Äther, ziemlich leicht in Methylalkohol, schwerer in Äthylalkohol, sehr schwer in Wasser und gar nicht in Petroläther.

l-Fenchyl-d-glucosid,



$C_{10}H_{17}O.C_6H_{11}O_5$.

4 g Tetraacetyl-glucosid wurden durch 16 g Bariumhydroxyd in 250 g Wasser und 75 ccm Alkohol bei 50 bis 60° verseift. Hierbei fiel die Ba-Verbindung des Glucosids in schönen, glän-

zenden Schuppen aus. Dieselbe wurde durch Einleiten von Kohlensäure in der Wärme zersetzt, das $BaCO_3$ abfiltriert und mehrmals mit Alkohol ausgekocht. Es zeigte sich nämlich, daß das Glucosid sich nicht leicht in Alkohol löst. Die alkoholischen Filtrate wurden unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft, der krystallinische Rückstand mit siedendem, absolutem Alkohol extrahiert und der Alkohol wieder im Vakuum verdunstet. Das Glucosid fiel hierbei krystallinisch aus. Zur völligen Reinigung wurde es aus siedendem, verdünntem Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute 2,5 g oder 90,6 % der Theorie.

Das krystallwasserhaltige Glucosid bildet prachtvolle, silberglänzende, biegsame, bitter schmeckende Nadeln, die eine Länge von etwa 2 cm erreichen können, schmilzt bei 124 bis 127° (korr.) unter Aufschäumen zu einer farblosen Flüssigkeit, verliert schon bei Zimmertemperatur, im Vakuumexsiccator aufbewahrt, teilweise sein Krystallwasser, indem der Glanz verschwindet und das Gewicht abnimmt. Rascher und vollständig geht das Krystallwasser im Vakuum bei 8 mm und 115° über P_2O_5 ab.

0,1044 g Substanz (bei 8 mm und 115° getr.) gaben 0,2336 g CO_2 und 0,0848 g H_2O.

Ber. für $C_{16}H_{28}O_6$ (316,224):	Gef.:
C = 60,72 %	61,02 %
H = 8,93 %	9,09 %.

Zur optischen Bestimmung wurde das wasserfreie Glucosid in absolutem Alkohol gelöst. Substanz: 0,1375 g; Gesamtgewicht der Lösung 8,7208 g; $d^{20}/_4 = 0,7977$; $p = 1,5767$; $l = 1$ dcm; $\alpha = -0,46°$ (bei 20° und Na-Licht)

$$[\alpha]_D^{20°} = -36,57°.$$

Das wasserfreie Glucosid sintert gegen 122° (korr.) und schmilzt bei 130 bis 132,5° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit. Es löst sich leicht in Aceton und Methylalkohol, ziemlich leicht in Essigester, schwerer in Äthylalkohol, Äther und Chloroform, schwer in Benzol, sehr schwer in kaltem Wasser und gar nicht in Petroläther.

Von verdünnten Mineralsäuren wird es in der Siedehitze verhältnismäßig rasch gespalten. Emulsin wirkt langsamer, wie folgender Versuch zeigt. In die Lösung von 0,0687 g wasser-

freiem Glucosid in 30 ccm Wasser wurden 0,07 g Emulsin und einige Tropfen Chloroform eingetragen. Nach 48 stündiger Einwirkung bei 37° betrug die Menge der Glucose 20% der Theorie.

r-Isoborneol-tetraacetyl-d-glucosid,


$C_{10}H_{17}O.C_6H_7O_5(COCH_3)_4$.

In die Lösung von 30 g r-Isoborneol in 100 ccm absoluten Äthers wurden insgesamt 20 g Acetobromglucose und 15 g Silbercarbonat, je in 4, etwa gleichgroßen Portionen jeden 3. Tag eingetragen und auf der Maschine geschüttelt.

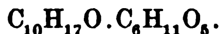
Der in obiger Weise isolierte Acetylkörper wurde aus siedendem, verdünntem Alkohol umkrystallisiert. Ausbeute an exsiccatortrockener, analysenreiner Substanz 13 g oder, auf die angewandte Menge der Acetobrom-glucose berechnet, 55,2% der Theorie.

0,1510 g Substanz gaben 0,3268 g CO_2 und 0,0995 g H_2O.

Ber. f. $C_{24}H_{36}O_{10}$ (484,289):	Gef.:
C = 59,47%	59,03%
H = 7,49%	7,37%.

Das Tetraacetylglucosid bildet lange, glänzende, ziemlich derbe Nadeln, schmilzt bei 119,5 bis 122,5° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit, löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform, Benzol, Essigester und Äther, etwas schwerer in Methyl- und Äthylalkohol, sehr schwer in Wasser und gar nicht in Petroläther.

r-Isoborneol-d-glucosid,


$C_{10}H_{17}O.C_6H_{11}O_5$.

4 g Tetraacetylglucosid wurden durch 16 g Bariumhydroxyd in 250 g Wasser und 75 ccm Alkohol bei 50 bis 60° verseift. Auch in diesem Falle fiel die Ba-Verbindung des Glucosids in glänzenden Schuppen aus. Unbekümmert davon wurde der Baryt durch Kohlensäure gefällt, der Niederschlag abfiltriert und mit warmem Alkohol ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum verdampft, der krystallinische, trockene Rückstand mit absolutem Alkohol ausgekocht und der Alkohol unter vermindertem Druck verdunstet. Das Glucosid blieb hierbei krystallinisch zurück. Zur völligen Reinigung wurde es aus siedendem Wasser umkrystallisiert. Ausbeute nahezu quantitativ.

Das krystallwasserhaltige Glucosid bildet lange, glänzend-weiße, biegsame, sehr bitter schmeckende Nadeln, die bei 133 bis 134,5° (korr.) unter Aufschäumen zu einer farblosen Flüssigkeit schmelzen und, längere Zeit im Vakuumexsiccator aufbewahrt, beinahe völlig ihr Krystallwasser verlieren.

0,1489 g Substanz (bei 8 mm und 125° getrocknet) gaben 0,3314 g CO_2 und 0,1184 g H_2O.

Ber. für $C_{16}H_{28}O_6$ (316,224):	Gef.:
C = 60,72 %	60,70 %
H = 8,93 %	8,90 %.

Zur optischen Bestimmung wurde das wasserfreie Glucosid in absolutem Alkohol gelöst. Substanz: 0,2935 g; Gesamtgewicht der Lösung: 9,1394 g; $d^{20}/_4 = 0{,}8023$; $p = 3{,}2114$; $l = 1$ dcm; $\alpha = -0{,}85°$ (bei 20° und Na-Licht)

$$[\alpha]_D^{20°} = -32{,}99°.$$

Das wasserfreie Glucosid sintert gegen 132° (korr.) und ist erst bei 143 bis 144,5° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit geschmolzen. Es löst sich leicht in Chloroform, Methyl- und Äthylalkohol, ziemlich leicht in Aceton, schon etwas schwerer in Äther und Essigester, ziemlich schwer in Wasser, schwer in Benzol und gar nicht in Petroläther.

Beim Kochen mit verdünnten Mineralsäuren wird das Glucosid ziemlich rasch gespalten. Emulsin bewirkt auch Hydrolyse, obwohl viel langsamer, wie aus folgendem Versuche hervorgeht. Eine Lösung von 0,075 g wasserfreiem Glucosid in 10 ccm Wasser wurde mit 0,075 g Emulsin und einigen Tropfen Chloroform im Brutschrank aufbewahrt. Nach 48 Stunden ergab die Titration mit Fehlingscher Lösung 0,010 g Glucose, d. h. 22 % der Theorie.

l-Borneol-tetraacetyl-d-glucosid,



$C_{10}H_{17}O.C_6H_7O_5(COCH_3)_4$.

Das Tetraacetylglucosid wurde unter Anwendung von genau denselben Mengen von Borneol, Acetobromglucose und Silbercarbonat und auf dieselbe Weise wie das vorige dargestelllt. Ausbeute an exsiccatortrockener und analysenreiner Substanz 13,7 g oder, auf die angewandte Menge der Acetobromglucose berechnet, 55,3 % der Theorie.

Die Analyse ergab:

0,1695 g Substanz gaben 0,3723 g CO_2 und 0,1119 g H_2O.

Ber. für $C_{24}H_{36}O_{10}$ (484,288):	Gef.:
C = 59,47 %	59,90 %
H = 7,49 %	7,39 %.

Das Tetraacetylglucosid krystallisiert in langen, farblosen, glänzenden, ziemlich derben Nadeln, schmilzt bei 124° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit, löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform, Benzol, Essigester und Äther, schwerer in Methylalkohol, ziemlich schwer in Äthylalkohol, sehr schwer in Wasser und gar nicht in Petroläther.



l-Borneol-d-glucosid,

$C_{10}H_{17}O . C_6H_{11}O_5$.

Zur Abspaltung der Acetylgruppen wurden 4 g Tetraacetylglucosid durch 16 g Bariumhydroxyd in 250 g Wasser und 75 ccm Alkohol verseift. Der Baryt wurde mit Kohlensäure gefällt, das Filtrat im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand mit siedendem absoluten Alkohol ausgezogen. Beim Abdestillieren des Alkohols im Vakuum blieb das Glucosid krystallinisch zurück. Zur völligen Reinigung wurde es aus siedendem Wasser umkrystallisiert. Ausbeute: 2,25 g oder 81,5 % der Theorie.

Das krystallwasserhaltige Glucosid bildet prächtige, silberglänzende, biegsame, sehr bitter schmeckende Nadeln, die eine Länge von $1^1/_2$ cm erreichen können, schmilzt bei 132,5 bis 133,5° (korr.) unter Aufschäumen zu einer farblosen Flüssigkeit und verliert, im Vakuum erhitzt, rasch sein Krystallwasser.

0,5648 g wasserhaltigen Glucosids verloren in 6 Stunden, bei 8 mm und 120° über P_2O_5 zur Gewichtskonstanz getrocknet, 0,0296 g Wasser.

Ber. für $C_{16}H_{28}O_6 + H_2O$:	Gef.:
H_2O = 5,39 %	5,24 %.

0,1207 g wasserfreien Glucosids gaben 0,2683 g CO_2 und 0,0956 g H_2O.

Ber. für $C_{16}H_{28}O_6$ (316,224):	Gef.:
C = 60,72 %	60,62 %
H = 8,93 %	8,86 %.

Zur optischen Bestimmung wurde das wasserfreie Glucosid in absolutem Alkohol gelöst. Substanz: 0,1985 g; Gesamtgewicht der Lösung: 8,9214 g; $p = 2{,}2278$; $d^{20}/_4 = 0{,}7999$; $l = 1$ dcm; $\alpha = -1{,}07^0$ (bei 20^0 und Na-Licht)

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = -60{,}12^0.$$

Das wasserfreie Glucosid schmilzt bei 138 bis 141° (korr.) zu einer farblosen Flüssigkeit. Es löst sich sehr leicht in Aceton, Chloroform und Methylalkohol, leicht in Äthylalkohol, ziemlich leicht in Essigester, etwas schwerer in Äther, ziemlich schwer in Wasser und Benzol, gar nicht in Petroläther.

Siedende, verdünnte Mineralsäuren spalten das Glucosid ziemlich leicht. Durch Emulsin wird es in größerem Umfange hydrolysiert, als das d-[1]) und Isoborneolglucosid, wie folgender Versuch zeigt: 0,0718 g wasserfreien Glucosids, in 10 ccm Wasser gelöst, wurden mit 0,07 g Emulsin und einigen Tropfen Chloroform bei 37° aufbewahrt. Nach 48 Stunden betrug die Menge der Glucose 35 °/₀ der Theorie. In diesem Zusammenhange möchte ich auf eine auffallende Analogie zwischen den isomeren Borneolglucosiden und den entsprechenden gepaarten Glucuronsäuren hinweisen. Wenn man nämlich an Kaninchen, die vorher Emulsin subcutan bekommen haben, d- und l-Borneol verfüttert, so ist der Umfang der Glucuronsäurepaarung gesteigert, in diesem Falle aber beträchtlich mehr als in jenem[2]).

Die angewandten Alkohole verdanke ich der Liberalität der Firma Schimmel & Co. in Miltiz. Bei der Ausführung der Versuche hat mir Herr stud. chem. K. A. Ståhlberg bewährte Hilfe geleistet.

---

[1]) E. Fischer und Raske, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 1473, 1909.

[2]) J. Hämäläinen und L. Sjöström, Skand. Arch. f. Physiol. 24, 113, 1910.

Zur Konstitution der Terpineol-35°-glucuronsäure.

Von

J. Hämäläinen.

(Aus den chemischen und physiologischen Instituten der Universität zu Helsingfors.)

(Eingegangen am 11. Februar 1913.)

In bezug auf die Konstitution der gepaarten Glucuronsäuren ist es von größtem Gewicht zu wissen, ob die Paarung zwischen Alkohol und Glucuronsäure mit oder ohne Wasseraustritt geschehen ist. Die gepaarten Säuren der erstgenannten Kategorie zeigen bekanntlich so auffallende Ähnlichkeit, speziell mit β-Glucosiden, daß denselben glucosidische Struktur zuzuschreiben ist.

Betreffend die gepaarten Säuren der Terpenalkohole ist man ziemlich selten in der Lage, die gepaarte Säure oder irgendeins ihrer Salze in reinem Zustand zu erhalten. Dies ist der Fall mit Terpineol-35°-glucuronsäure und ihren Salzen, die gut krystallisieren.

Matzel[1]) hat die freie Säure und ihr Ba-Salz in Händen gehabt, aber die Ba-Bestimmungen ließen keinen bestimmten Schluß ziehen, ob die Paarung zwischen Terpineol-35° und Glucuronsäure mit oder ohne Wasseraustritt erfolgt ist, d. h. ob der gepaarten Säure glucosidische Struktur zukommt oder nicht.

Ich habe deshalb diese Frage im Anschluß an meine Untersuchungen über das Verhalten der alicyklischen Verbindungen im Organismus[2]) aufgenommen. Es ist mir gelungen,

[1]) Matzel, Arch. intern. de Pharmacodyn. et de Thérapie 14, 342, 1905.

[2]) J. Hämäläinen, Skand. Arch. f. Physiol. 27, 141, 1912.

das reine Na-Salz der gepaarten Säure wasserfrei zu erhalten. **Hierdurch ist der Beweis erbracht, daß die Paarung unter Wasseraustritt geschieht.**

Als Versuchstiere dienten Kaninchen. Das Terpineol wurde, in Olivenöl gelöst, denselben zweimal täglich in Dosen von 1 g beigebracht. Insgesamt wurden 50 g Terpineol verfüttert.

Der gesammelte Harn wurde bei schwach saurer Reaktion zuerst mit neutralem Bleiacetat gefällt, der Niederschlag abfiltriert, mit heißem Wasser gewaschen und das Filtrat allmählich mit basischem Bleiacetat versetzt, solange gerade ein Niederschlag entstand. Die gepaarte Säure ging ziemlich vollständig in diesen Niederschlag über. Die basische Bleifällung wurde sorgfältig mit heißem Wasser ausgewaschen, mit 10°/₀iger Schwefelsäure in der Kälte zersetzt, vom Bleisulfat abfiltriert, das Filtrat sofort mit Bariumcarbonat neutralisiert, wiederum filtriert und bei gelinder Wärme eingeengt.

Die konzentrierte Lösung wurde mit Alkohol verdünnt und mit Äther gefällt. Der Niederschlag war anfangs schneeweiß, zerfloß aber bald zu einer zähen, bräunlichen Masse. Dieselbe wurde in wenig Wasser gelöst, mit Alkohol und Äther zur leichten Trübung versetzt und im Eisschrank aufbewahrt Nach einigen Tagen schied sich das Ba-Salz in farblosen Krystallen aus.

Zur Darstellung des Na-Salzes wurde das Ba-Salz in Wasser gelöst und in der Wärme mit Natriumsulfatlösung quantitativ gefällt, vom $BaSO_4$ abfiltriert und das Filtrat auf dem Wasserbade verdampft. Hierbei blieb das Na-Salz krystallinisch zurück. Es wurde aus wenig kochendem Wasser unter Zusatz von Alkohol umkrystallisiert.

Zur Analyse wurde das Salz im Vakuum bei 110° zum konstanten Gewicht getrocknet.

0,0930 g gaben 0,1851 g CO_2 und 0,0595 g H_2O.

Ber. für $C_{16}H_{25}O_7Na$:	Gef.:
C = 54,05°/₀	54,29°/₀
H = 7,17°/₀	7,17°/₀

Die Na-Bestimmung ergab:

0,1213 g gaben 0,0242 g Na_2SO_4.

Ber. für $C_{16}H_{25}O_7Na$: Na = 6,54 % — Gef.: 6,45 %

Das krystallwasserhaltige Salz bildet farblose, glänzende Nädelchen, löst sich leicht in Wasser, schwer in siedendem Alkohol. In anderen gebräuchlichen, indifferenten, organischen Solventien ist es praktisch unlöslich. Im Vakuum längere Zeit aufbewahrt, verlieren die Krystalle allmählich ihren Glanz und nehmen an Gewicht ab. Das Krystallwasser verschwindet jedoch völlig erst im Vakuum bei 110°.

Etwa 2 g Ba-Salz wurden mit verdünnter Schwefelsäure gekocht. Nach kurzer Zeit wurde der Geruch von Terpineol-35° wahrnehmbar. Die Lösung reduzierte jetzt intensiv Fehlingsche Lösung und gab prachtvolle Farbenreaktionen der Glucuronsäure.

Das angewandte Terpineol verdanke ich der Liberalität der Firma Schimmel & Co. in Miltitz. Bei der Ausführung dieser Versuche wurde ich von Herrn stud. chem. A. D. Lackström unterstützt.

Über die Titration der Harnsäure im Harn nach vorgängiger Silberfällung.

Von

Erich Kretschmer.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 14. Februar 1913.)

An Methoden zur quantitativen Bestimmung der Harnsäure im Harn ist kein Mangel, und die Ausarbeitung einer neuen Methode könnte daher überflüssig erscheinen. Tatsächlich haftet den bereits bestehenden Methoden der Fehler an, daß ihre Ausführung für den klinischen Gebrauch zu zeitraubend und für den weniger Geübten mit zuviel Schwierigkeiten verknüpft ist. Das Resultat ist außerdem, wenigstens was die gebräuchlichste und wohl auch exakteste Methode von Salkowski-Ludwig betrifft, im besten Falle erst am zweiten Tage und auch an diesem nicht sofort, sondern erst nach mehreren Stunden zu erfahren. Daher folgte ich gern der Anregung von Herrn Geheimrat E. Salkowski, eine Modifikation seiner Silbermethode vorzunehmen und in dem Harnsäuresilberniederschlag die Harnsäure durch Titration mit Kaliumpermanganat zu bestimmen. Es ist dies ein Vorschlag, den E. Salkowski bereits im 35. Jahrgang der Charité-Annalen gemacht hat, ausgehend von einer von Folin und Shaffer[1]) gemachten Angabe, daß sich ein aus einer reinen Harnsäurelösung gefällter Silberniederschlag mit Permanganat titrieren lasse.

Angaben über Methoden zur Titrierung der Harnsäure liegen vor von Folin-Shaffer, Byasson und Garnier, sowie von Cazé.

---

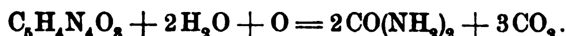
[1]) O. Folin und Ph. A. Shaffer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 553, 1900.

Byasson[1]) und Garnier[2]) fällen die Harnsäure durch ein Gemisch von Bariumchlorid und Bariumhydrat, waschen den Niederschlag, bringen ihn in mit Schwefelsäure angesäuertes Wasser und titrieren mit Kaliumpermanganat. Dies Verfahren gibt nach Cazé[3]) zu hohe Werte wegen der Schwierigkeit, den massigen Niederschlag auszuwaschen.

Cazé (l. c.) fällt den Harn mit Ammoniumchlorid, wäscht den Niederschlag mit Salzsäure, versetzt ihn dann im Kolben mit Natronlauge, Wasser und überschüssiger Schwefelsäure und titriert mit $^{n}/_{20}$-Kaliumpermanganat.

Bei der ziemlich gebräuchlichen Folin-Shafferschen[4]) Methode wird die Harnsäure als Ammoniumurat ausgefällt und in saurer Lösung mit Kaliumpermanganat titriert.

Wie bei fast allen Oxydationen mit Kaliumpermanganat verläuft auch die Oxydation von Harnsäure verschieden, je nachdem sie in alkalischer oder saurer Lösung stattfindet. Nach Jolles[5]) kann man in saurer Lösung die Oxydation leicht so leiten, daß dabei quantitativ Harnstoff oder doch Ammoniak und Kohlensäure entstehen:



$$C_5H_4N_4O_3 + 2H_2O + O = 2CO(NH_2)_2 + 3CO_2.$$

Dabei ist, wie schon Blarez und Denigès[6]) gefunden haben, von Wichtigkeit, daß die Harnsäurekonzentration der Lösung einen bestimmten Grad nicht überschreitet, da in konzentrierter Lösung von derselben Harnsäuremenge bedeutend mehr Permanganat entfärbt wird als in verdünnter. Das Konzentrationsoptimum besteht nach diesen Forschern, wenn in 800 ccm nicht mehr als 0,1 g Harnsäure vorhanden ist. Bei dieser Konzentration entspricht 1 ccm $^{n}/_{10}$-$KMnO_4$ = 7,4 mg Harnsäure, ein Wert, der mit dem von Hopkins[7]) angegebenen

[1]) Byasson, Journ. de Chim. et de Pharm. **6**, 20, 1892.

[2]) Garnier, Enzycl. chim. — Garnier et Schlagdenhauffen, Analyse chimiques des liquides et des tissus de l'organisme. Paris 1888.

[3]) A. Cazé, Sur le dosage de l'acide urique, thèse de pharmacie. Lille 1895.

[4]) O. Folin und Ph. A. Shaffer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**, 224 u. **32**, 567, 1900.

[5]) A. Jolles, Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**, 239, 1900.

[6]) Ch. Blarez und Denigès, Compt. rend. de l'Acad d. Sc. **104**, 789, 1887.

[7]) G. Hopkins, Proc. Roy. Soc. **52**, 93, 1892.

übereinstimmt, wonach 1 ccm $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$ = 3,75 mg Harnsäure entspricht.

Von diesen Gesichtspunkten ausgehend verfuhr ich zunächst folgendermaßen: Die Harnsäure wurde wie beim Salkowskischen Verfahren nach Fällung des Harnes mit Magnesiamixtur mit ammoniakalischer Silberlösung aus dem Harn ausgefällt. Dann wurde der Niederschlag vom Filter in ein Becherglas gespritzt, mit 15 ccm konzentrierter Schwefelsäure zersetzt und bei 60 bis 64° mit $^{n}/_{20}$-Kaliumpermanganatlösung titriert. Die so erhaltenen Resultate waren absolut unbrauchbar. Nach dem Zersetzen mit Schwefelsäure schied sich nämlich schwerlösliches Silbersulfat ab, welches, da es lichtempfindlich ist und sich am Licht violett färbt, eine genaue Bestimmung des Reaktionsendpunktes unmöglich machte. Demgemäß sind die Resultate dieser Bestimmungen auch durchaus abweichend von den Kontrollbestimmungen, die nach der gewöhnlichen Methode von Salkowski erfolgten.

Tabelle I.

Nr.	Gravimetrisch		Titrimetrisch	
	Harnsäure g	Harnsäure %	$^{n}/_{20}$-$KMnO_4$ ccm	Harnsäure %
1	0,0620	0,047	46,50	0,13
2	0,0807	0,060	38,98	0,10

Es war also notwendig, das abgeschiedene Silbersulfat vor der Titration mit $KMnO_4$ zu entfernen.

Das Verfahren gestaltete sich jetzt wie folgt:

Man geht von 200 ccm im Harn aus und verfährt bis zur Silberfällung genau wie nach Salkowski[1]). Der Niederschlag wird ausgewaschen, „bis Proben des Filtrats sowohl beim Ansäuern mit Salpetersäure klar bleiben (Abwesenheit von Silber), als auch bei nachträglichem Zusatz von Silbernitrat nur noch ganz schwache Trübung zeigen (geringer Gehalt an Chloriden)“. Nunmehr wird der Niederschlag quantitativ in ein Becherglas übergeführt und mit 15 bis 20 ccm konzentrierter Schwefelsäure zersetzt. Es wird bis zum wallenden Sieden erhitzt, sofort vom

[1]) E. Salkowski, Praktikum der physiologischen und pathologischen Chemie. 4. Aufl. S. 262. Berlin 1912.

Silbersulfat filtriert und mehrfach mit heißem Wasser ausgewaschen. Das Volumen der Lösung betrage ca. 250 ccm. Man läßt auf 60 bis 64° erkalten bzw. erwärmt bis zu dieser Temperatur und titriert sofort mit $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$. Das Filtrat vom Silbersulfat ist manchmal etwas opak, läßt sich jedoch sehr gut titrieren. Man kann dem übrigens abhelfen, indem man ein gehärtetes Filter (Schleicher & Schüll Nr. 575) verwendet, muß dafür aber den Nachteil längeren Filtrierens in Kauf nehmen. Durch Multiplikation der verbrauchten Kubikzentimeter $KMnO_4$ mit 0,00281 erhält man Prozente Harnsäure. Dieser Faktor ist entstanden durch Multiplikation des Hopkinschen Faktors 3,75 mit 0,75. Man füllt nämlich 200 ccm Harn nach der Fällung mit Magnesiamixtur auf 300 ccm auf und filtriert nur 200 ccm ab, muß also zur Umrechnung auf Prozente auch noch mit 0,75 multiplizieren.

Beispiel: Verbraucht 11,1 ccm $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$.

$11{,}1 \times 0{,}00281 = 0{,}031\,^0/_0$ Harnsäure.

In der folgenden Tabelle sind eine Anzahl nach dieser Methode erhaltene Werte mit den nach der Salkowskischen Methode erhaltenen Resultaten verglichen.

Tabelle II.

Nr.	Prozente Harnsäure	
	Gravimetrisch	Titrimetrisch
1	0,051	0,055
2	—	{0,074 0,074
3	0,033	{0,046 0,048
4	0,075	0,083
5	0,022	0,031
6	0,047	0,057
7	0,052	0,059
8	0,057	0,067
9	0,080	0,088

Wie die Doppelbestimmungen in Nr. 2 und 3 zeigen, stimmen die Titrationen unter sich gut überein. Die gravimetrischen Werte sind jedoch durchweg etwas niedriger als die titrimetrischen, eine Erscheinung, für deren Erklärung es zwei Möglichkeiten gibt: entweder, daß beim Auswaschen der auskrystallisierten

Harnsäure nach der gravimetrischen Methode etwas Harnsäure gelöst wird, oder daß bei dem Titrationsverfahren noch andere organische Substanzen mitoxydiert werden. Die letztere Annahme ist durch das Experiment bestätigt worden. Von organischen Harnbestandteilen, die noch in Lösung sein konnten, kamen Harnstoff und Purinbasen in Betracht.

Was den Harnstoff betrifft, so haben bereits Tiemann und Preuße[1]) nachgewiesen, daß er in saurer Lösung bei 100° durch eine $^{n}/_{100}$-Permanganatlösung nicht zersetzt wird. Wie sich die $^{n}/_{20}$-Permanganatlösung zu Harnstoff verhält, geht aus folgenden Versuchen hervor.

Die Harnstofflösungen wurden nach der Kubelschen Methode[2]) für die „Bestimmung der durch organische Substanzen veranlaßten Oxydierbarkeit des Wassers" mit $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$ titriert; verglichen damit wurde eine Doppelbestimmung mit destilliertem Wasser.

Tabelle III.

Lösung	1		2		3		4	
	Destilliertes Wasser ccm		0,01 %ige Harnstofflös. ccm		0,01 %ige Harnstofflös. ccm		0,1 %ige Harnstofflös. ccm	
$^{n}/_{20}$-$KMnO_4$ . .	0,60	0,60	0,80	0,62	0,83	0,73	0,75	0,75

Die mit den Harnstofflösungen erhaltenen Resultate sind also nicht wesentlich höher, als die mit destilliertem Wasser erhaltenen, d. h. eine 0,01 %ige oder selbst 0,1 %ige Harnstofflösung wird von einer $^{n}/_{20}$-Permanganatlösung nicht angegriffen. Daß im vorliegenden Falle, bei der Titrierung von Harnsäure aus Harn, Harnstoff in stärkerer Konzentration als in der angewandten Lösung anwesend sei, ist nicht anzunehmen. Es blieb also noch die Möglichkeit, daß die höheren Werte, die mit der Titrationsmethode erhalten wurden, auf die vom Silbernitrat mitgefällten Purinbasen zurückzuführen sind. Dies ist, wie weiter unten gezeigt wird, in der Tat der Fall.

Auch nach Folin-Shaffer erhält man übrigens höhere Werte als nach Salkowski. In dem folgenden Versuche wurden

---

[1]) Tiemann und Preuße, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 12, S. 1906.

[2]) Kubel und Tiemann, bes. von Gärtner, Anleitung z. Untersuchung von Wasser. 3. Aufl. S. 259. Braunschweig.

je 200 ccm desselben Harnes zur Harnsäurebestimmung a) nach Salkowski, b) nach Folin-Shaffer verwandt.

Tabelle IV.

	a	b_1	b_2
Harnsäure (%) . .	0,07	0,08	0,08

Es kam nunmehr zunächst darauf an, das Verhältnis einzelner Purinkörper zu $^n/_{20}$-$KMnO_4$ kennen zu lernen, d. h. zu sehen, ob die Oxydation durch $^n/_{20}$-Permanganatlösung vollständig verläuft. In dieser Absicht wurden die folgenden Versuche angestellt.

I. Guanin.

0,1920 g Guanin wurden unter Zusatz von 35 ccm Schwefelsäure in heißem Wasser gelöst und nach dem Erkalten auf 200 ccm aufgefüllt. Von dieser Lösung wurden je 50 ccm unter Zusatz von weiteren 10 ccm Schwefelsäure bei 60° mit $^n/_{20}$-$KMnO_4$ titriert. Der Endpunkt der Reaktion war nicht zu erkennen; die Versuche stimmten infolgedessen sehr schlecht überein.

II. Hypoxanthin.

0,1898 g Hypoxanthin wurden unter Zusatz von 5 ccm Schwefelsäure in 200 ccm Wasser gelöst. Zu 50 ccm dieser Lösung wurden 10 ccm Schwefelsäure gesetzt, auf 60° erhitzt und mit $^n/_{20}$-Kaliumpermanganatlösung titriert. Die Entfärbung der Permanganatlösung erfolgte von Anfang an sehr langsam und zögernd, der Endpunkt war unscharf. Zwei weitere Versuche verliefen ebenso.

III. Harnsäure plus Hypoxanthin.

Es wurde nun untersucht, ob sich das Hypoxanthin vielleicht in Verbindung mit Harnsäure anders verhält. Zu diesem Zweck wurden zunächst 0,1945 g Harnsäure unter Zusatz von etwas Natronlauge in 500 ccm Wasser gelöst und je 50 ccm dieser Lösung mit $^n/_{20}$-$KMnO_4$ titriert. Die folgende Tabelle zeigt, daß stets die gesamte Harnsäure durch die Permanganatlösung oxydiert wurde, wie das ja auch von Jolles (l. c.) bereits angegeben ist.

Tabelle V.

Nr.	Verbrauchte ccm $^n/_{20}$-$KMnO_4$			im Mittel	Entsprechend Harnsäure
	a	b	c	ccm	g
1	5,52	4,90	5,36	5,26	0,1972
2	5,25	5,23	5,22	5,23	0,1961

Je 50 ccm dieser Harnsäurelösung wurde mit je 20 ccm der obigen Hypoxanthinlösung versetzt und abermals mit $^n/_{20}$-$KMnO_4$ titriert.

Verbrauchte ccm $^n/_{20}$-$KMnO_4$		
a	b	c
7,72	8,03	8,20

Hier schwanken die Resultate zwar auch noch innerhalb ziemlich weiter Grenzen, immerhin ist doch aber der Endpunkt der Reaktion deutlich zu erkennen. Es hat also den Anschein, als ob sich ein Gemisch von Harnsäure und Purinbasen ganz gut titrieren läßt. Da hierzu das Gemisch der Purinbasen, wie es im Harn vorkommt, zweifellos am geeignetsten ist, so ging ich daran, aus einer größeren Menge Harn die Purinbasen darzustellen nnd sie zu Versuchen zu verwenden. Zu diesem Zwecke wurde aus 23 l Harn in täglichen Portionen von 2 bis 4 l die Harnsäure nach Salkowski zur Krystallisation gebracht und die Filtrate der Krystallisationen gesammelt. Natürlich wurde das Volumen jedes Filtrates möglichst beschränkt, um möglichst wenig Harnsäure in Lösung zu bringen. Die Gesamtmenge der Filtrate betrug 635 ccm. Das von Harnsäure nach Möglichkeit befreite Filtrat wurde in Portionen von 100 ccm mit je 200 ccm Natriumbisulfit und 200 ccm Kupfersulfat gefällt, die Niederschläge mit heißem Wasser gewaschen und gemeinschaftlich mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat wurde im Vakuum dreimal bis zum dünnen Sirup, darauf dreimal bis zur Trockne eingedampft, um die Hauptmenge der Säure zu entfernen. Es hinterblieb ein ziemlich reichlicher, gelblichbraun gefärbter Rückstand, der noch stark salzsäurehaltig und infolgedessen hygroskopisch war. Er wurde nach Möglichkeit verrieben und mehrere Tage über Kali im Vakuumexsiccator getrocknet.

Beim Ausziehen mit Wasser ging der größere Teil als Salzsäureverbindung in Lösung.

a) Löslicher Anteil[1]).

Die Lösung wurde stark ammoniakalisch gemacht und mit Silbernitrat gefällt, der Rückstand mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat vom Schwefelsilber eingedampft. Es hinterblieb ein gelblicher, in Wasser löslicher Rückstand, dessen Gewicht nach Trocknen im Vakuumexsiccator 0,7331 g betrug.

b) Unlöslicher Anteil.

Der in Wasser ungelöst gebliebene Rückstand wurde mit Ammoniak ausgezogen und filtriert. Das ammoniakalische Filtrat wurde zur Trockne verdampft, worauf ein gelblichbrauner, 0,2338 g schwerer Rückstand zurückblieb.

Versuche mit Purinbasen.

0,1 g der wasserunlöslichen Substanz (b) wurden unter Zusatz von ca. 5 ccm Schwefelsäure in heißem Wasser gelöst und die Lösung nach dem Erkalten auf 50 ccm gebracht. Von einer Spur ungelöster Substanz wurde durch ein trocknes Filterchen abfiltriert und vom Filtrat je 20 ccm unter Zusatz weiterer 10 ccm Schwefelsäure mit $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$ titriert.

Tabelle VI.

Verbrauchte ccm $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$	
I	II
11,72	11,48

Die beiden Zahlen stimmen ziemlich gut überein und zeigen, daß in beiden Lösungen die Purinbasen gleichmäßig von der Permanganatlösung angegriffen wurden. Noch eklatanter beweist dies folgender Versuch. Hierzu wurde eine Lösung der „löslichen“ Purinbasen verwendet, und zwar wurde dabei gleichzeitig eine titrimetrische Harnsäurebestimmung aus 200 ccm Harn gemacht, zu weiteren 200 ccm desselben Harns wurden 25 ccm der 0,1 $^{0}/_{0}$igen Purinbasenlösung gefügt und ebenfalls

[1]) Die Wasserlöslichkeit ist natürlich größtenteils durch die Salzsäure bewirkt.

die Harnsäure bestimmt, und schließlich wurden 25 ccm derselben Purinbasenlösung mit $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$ titriert.

Es ergab sich folgendes Resultat:

Tabelle VII.

Nr.	Lösung	ccm $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$
1	Harn	22,98
2	Harn + Purinbasen	36,25
3	Purinbasen	19,42

In Nr. 2 der obigen Tabelle ist gegenüber Nr. 1 genau so viel Permanganat mehr gebraucht worden, als zwei Dritteln von Nr. 3 entspricht ($2 \times 6{,}47 = 12{,}94$). Dies rührt daher, daß bei der Bestimmung nach Salkowski von den 300 ccm, auf die der Harn nach der Fällung mit Magnesiamixtur aufgefüllt wird, nur 200 ccm abfiltriert und zur weiteren Bestimmung verwendet werden. Man muß also auch von den zugesetzten 25 ccm der Purinbasenlösung ein Drittel abziehen. Addiert man nunmehr zu der Zahl von Nr. 1 zwei Drittel der Zahl von Nr. 3, so erhält man eine Zahl, die mit der in Nr. 2 sehr gut übereinstimmt:

$$\begin{array}{r} 22{,}98 \\ +\ 12{,}94 \\ \hline 35{,}92 \end{array}$$

Man kann jedenfalls aus diesem Versuch schließen, daß die Purinbasen in dem Gemenge, wie sie im Harn vorkommen, von $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$ quantitativ oder doch wenigstens in verschiedenen Lösungen gleichmäßig oxydiert werden.

Bei dem ganzen Verfahren der Titration mit Permanganat nach vorhergehender Fällung mit Silbernitrat handelt es sich also nicht um eine Bestimmung der Harnsäure allein, sondern um eine Bestimmung der gesamten Purinkörper des Harns.

Es fragt sich nun, ob man die Bestimmung trotzdem als Harnsäurebestimmung benutzen kann. Eine Korrektur für die Purinbasen anzubringen, ist nicht angängig, da das Verhältnis der Harnsäure zu den Purinbasen im Harn starken Schwankungen unterworfen ist.

Die Angaben, die in der Literatur darüber gemacht sind, widersprechen sich übrigens. Nach Flatow und Reitzen-

stein[1]) tritt der Xanthinbasenstickstoff gegenüber dem Harnsäurestickstoff sehr erheblich zurück und beträgt im Durchschnitt 5,3 % davon, nach Salkowski[2]) ist das Verhältnis Purinbasen : Harnsäure = 1 : 10 bis 1 : 13. Man könnte jedoch, wie ich glaube, die Methode, wenn es sich nicht um ganz genaue Bestimmungen handelt, als Harnsäurebestimmung verwenden. Besonders für den klinischen Gebrauch ist sie zu empfehlen, da sie ziemlich leicht auszuführen ist und nicht viel Zeit in Anspruch nimmt. Die ganze Bestimmung läßt sich in ca. 1½ Stunden durchführen; man erhält also das Resultat einer Untersuchung sehr bald, was unter Umständen wertvoll sein kann.

Zusammenfassung.

Das nach der Salkowskischen Methode aus dem Harn ausgefällte Magnesiumsilberurat läßt sich nach Zersetzen durch konzentrierte Schwefelsäure mit $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$ glatt titrieren, nachdem das ausgeschiedene Silbersulfat abfiltriert worden ist.

Die im Vergleich mit der Salkowskischen Methode etwas hohen Werte dürften dadurch zustande kommen, daß auch die im Silbermagnesiumniederschlag mitgefällten Purinbasen oxydiert werden, und zwar allem Anschein nach vollständig. Auf etwaigen Gehalt des Niederschlages an Harnstoff ist die Werterhöhung offenbar nicht zurückzuführen, da selbst eine 0,1 %ige Harnstofflösung noch nicht von einer $^{n}/_{20}$-$KMnO_4$-Lösung angegriffen wird.

Für klinische Zwecke ist die Methode wegen ihrer leichten und schnellen Ausführbarkeit zu empfehlen.

---

[1]) Flatow und Reitzenstein, Deutsche med. Wochenschr. 23, 354, 1897.

[2]) E. Salkowski, Arch. f. d. ges. Physiol. 69, 295, 305, 1898.

Die Wirkung der Giftstoffe verschiedener Konzentrationen auf die Samen.

Ein Beitrag zum Studium der biochemischen Wirkung der höchst konzentrierten Lösungen.

Von

V. Arcichovskij.

(Aus dem botanischen Laboratorium des Polytechnischen Instituts in Nowotscherkask.)

(Eingegangen am 17. Februar 1913.)

Mit 1 Tafel und 5 Figuren im Text.

Bei den Untersuchungen der Giftwirkungen wurden bis jetzt hauptsächlich die schwächeren und schwächsten Konzentrationen studiert, aber auch die stärksten Konzentrationen verdienen in ihrer Wirkung auf die Organismen die größte Aufmerksamkeit.

Pasteur hat gezeigt, daß eine mehrtägige Aufbewahrung der Sporen von Bacillus anthracis im absoluten Alkohol nicht tödlich wirkt. Claude Bernard, Koch, Nobbe und Italo Giglioli haben in ihren Versuchen mit verschiedenen Mikroorganismen und Samen ein Ähnliches nachgewiesen. Kurzwelly[1]) hat diese Erscheinungen eingehender studiert und fand, daß die trockenen Samen, Sporen und Moose außerordentlich resistent gegen absoluten Alkohol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff usw. sind. In denselben, aber wasserhaltigen Stoffen zeigten sie diese enorme Resistenz nicht. A. Beyer[2]) fand, daß die 70⁰/₀ige Lösung von Alkohol für die Bakterien maximale Giftigkeit besitzt, während stärkere und schwächere Lösungen weniger giftig sind. Schubert[3]) hat nachgewiesen,

---

[1]) Kurzwelly, Über die Widerstandsfähigkeit trockener pflanzlicher Organismen gegen giftige Stoffe. Jahrb. f. wiss. Bot. **38**, 1913, Inaug.-Diss.; s. dort auch die oben zitierte Literatur.

[2]) Alfred Beyer, Ref. Chem. Centralbl. **1912**, 1485.

[3]) W. Schubert, Über die Resistenz exsiccatortrockener pflanzlicher Organismen gegen Alkohol und Chloroform bei höheren Temperaturen. Flora **100**, 68 bis 120, 1910.

daß exsiccatortrockene pflanzliche Organismen auch bei höheren Temperaturen gegen absoluten Alkohol, Chloroform usw. sehr resistent sind.

Bei den Untersuchungen der Methoden der Samendesinfektion fand ich, daß die stärksten Konzentrationen von desinfizierenden Stoffen (hauptsächlich von Formalin) für die Samen weniger giftig sind als die schwächeren Lösungen[1]).

Lesage[2]) studierte die Einwirkung der Alkohollösungen auf die Keimfähigkeit der Samen. Er hat im wesentlichen eine ähnliche Abhängigkeit gefunden wie A. Beyer für die Bakterien; er fügt aber hinzu, daß auch Kochsalzlösungen und vermutlich auch andere Stoffe dieselben Erscheinungen zeigen.

Meine oben erwähnten, bei der Desinfektion der Samen gemachten Beobachtungen veranlaßten mich, diese Erscheinung näher zu untersuchen.

Am eingehendsten wurde von mir die Einwirkung von Formalin in verschiedenen Konzentrationen auf die Keimfähigkeit, und zwar bei den Samen der Erbse, studiert. Außerdem wurde mit denselben Samen die Einwirkung von Schwefelsäure und Silbernitrat untersucht.

I. Formalin.

Die Lösung, von der ich bei meinen Versuchen ausging, war die käufliche 40%ige Formalinlösung. Durch die Verdünnung mit Wasser wurden daraus Lösungen von 32%, 16%, 8%, 4%, 2%, 1%, $^1/_2$%, $^1/_4$% und $^1/_8$% bereitet. Samenproben (30 bis 35 St.) wurden der Einwirkung jeder dieser Formalinlösungen in Menge von 50 ccm bei 18° unter-

---

[1]) V. Arcichovskij, Über die Methoden der Erhaltung reiner Samen für die Reinkultur höherer Gewächse (vorl. Mitteilung). Tagebuch des II. Mendeljeeffschen Kongresses (Russisch „Dnevnik II Mendelěevskago Sjězda"), 1911, Nr. 3, 27.

[2]) Compt. rend. 153, 822. — Während des Lesens der Korrektur habe ich noch zwei Beiträge von P. Lesage erhalten: 1. Sur la courbe des limites de la germination des graines après sejour dans les solutions salines (Nitrate, Sulfate und Chloride von K, Na und NH_4). Compt. rend. 156, 559, séance du 17. II. 1913; und 2. Sur l'attitude de quelques semences soumises à l'action de solutions diverses de sulfate de cuivre. Bull. de la Soc. scientif. et médicale de l'ouest 21, Nr. 3, 1912. — Im ersten Beitrage bestätigt er seine oben zitierte Vermutung.

worfen. Die Einwirkungszeiten schwankten zwischen 1 Stunde und 256 Stunden, und zwar 1 Std., 2 Std., 4 Std., 8 Std., 16 Std., 32 Std., 64 Std., 128 Std. und 256 Stunden. Nach der Einwirkung des Giftes wurden die Samen in einem besonderen Apparat auf die Dauer einer Stunde mit zirka sechs Liter fließendem, mittels Filtration sterilisiertem Wasser gründlich durchgewaschen.

Die Anordnung des Apparates zur Waschung der Samen ist aus Fig. 1 ersichtlich. *A* ist ein gläsernes Waschgefäß, das aus einem trichterförmigen unteren Teil (*a*) und einem Deckel (*b*) besteht. Vom unteren Teile (*a*) gehen 2 Röhren aus, von denen die eine (*c*) zum Ablaufen des Waschwassers dient, während durch die andere Röhre (*d*) der Zufluß desselben erfolgt. Das mittels Filtration durch eine Chamberland-Kerze (*e*) sterilisierte Wasser sammelt sich vor der Waschung in einem Gefäße (*f*). Vor jedem Versuche wurde der ganze Waschapparat, inklusive der Kerze, im Autoklaven bei 120° sterilisiert, und dann das Waschgefäß (*A*) in die Saatcamera[1]) gestellt.

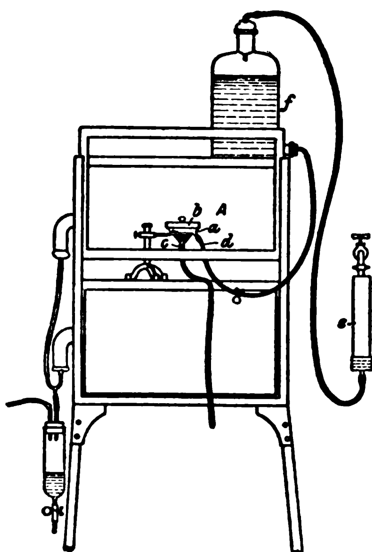


Fig. 1. Schema der Anordnung der Apparate bei der Waschung der Samen. *A* im Innern der Saatcamera Waschapparat; *e* Chamberland-Kerze; *f* ein Gefäß zum Einsammeln des filtrierten Wassers.

Daß die einstündige Waschung ziemlich genügend und die jeweilig zurückbleibende Formalinmenge ohne bemerkbare Wirkung auf die Keimfähigkeit der Samen ist, kann man aus dem folgenden Versuche ersehen. 80 Samen wurden am 9. VI. 1912 $^1/_2$ Stunde in 16$^0/_0$ige Formalinlösung gelegt. Die Keimfähigkeit dieser Samen wurde dann nach der verschiedenen Zeitdauer der Waschung geprüft: die ersten 24 Samen verblieben $^1/_2$Stunde im Waschapparate, die zweiten 25 Samen eine Stunde und die letzten 25 zwei Stunden. Hierbei wurden die folgenden Resultate gefunden:

[1]) V. Arcichovskij, Die Saatcamera. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. 1913.

		Die Dauer der Waschung	Die Zahl der gekeimten Samen								
			10. VI.	11. VI.	12. VI.	13. VI.	14. VI.	15. VI.	16. VI.	17. VI.	
$^1/_2$ stündige Einwirkung von 16% iger Formalinlösung		$^1/_2$ Std.	2	15	2	3	—	—	—	—	92%
		1 Std.	4	13	5	2	—	1	—	—	100%
		2 Std.	7	14	3	—	—	—	—	—	96%
Kontrollversuche (ohne Formalin)	Keimend unter denselben Bedingungen	1 Std.	3	15	5	1	—	1	—	—	100%
	Im Keimapparate auf Torf	1 Std.	—	2	38	49	9	1	—	—	99%

Vergleichen wir die gefundenen Resultate mit dem Keimungsgange derjenigen Samen, die keiner Formalinwirkung unterlagen, sondern nur eine einstündige Waschung durchmachten, und unter denselben Bedingungen keimten, so sehen wir, daß der Keimungsgang bei beiden Versuchen fast derselbe ist, wogegen die im Keimapparat auf Torf befindlichen Samen bedeutend langsamer keimten.

Um die bei der Waschung angewandte Methode auf wirkliche bakteriologische Reinheit zu prüfen, habe ich die im Autoklaven bei 120° sterilisierten Samen der Erbse unter den angeführten Bedingungen im Waschapparat während 4 Stunden durchgewaschen. Dann wurden 25 Samen mit sterilen Pinzetten einzeln in ebensoviel mit Nährbouillon gefüllte Probiergläser gelegt. Nach 14 tägiger Aufbewahrung dieser Probiergläser im Termostaten bei 35° zeigte es sich, daß alle Samen auch noch nach der Waschung steril geblieben waren.

Aus der Zahl der am Ende eines jeden Versuches lebend gebliebenen Samen zog ich den Schluß auf die Giftigkeit der angewandten Stoffe. Als lebend nahm ich alle Samen an, bei denen durch einen Riß in der Samenschale die Spitze der Wurzel oder der Knospe, auch wenn sie noch sehr klein, erschienen war.

Ich muß aber bemerken, daß manchmal bei diesen Keimlingen eine weitere Entwicklung nicht vor sich ging, und daß daher bei der gewöhnlichen Samenprüfung nicht alle solche Samen, die ich lebend nenne, als wirklich keimfähig angenommen werden.

Die Keimung der Samen wurde gewöhnlich durch die

Giftstoffe mehr oder weniger stark verzögert und die Resistenz der Samen gegen Entwicklung von Mikroorganismen geschwächt. Hierdurch wurde selbstverständlich die Verunreinigung der Samen sehr erleichtert.

Es erwiesen sich daher in meinem Falle die gewöhnlichen Keimapparate für die Keimung der Versuchssamen ungeeignet. Viele Samen gingen als Opfer der Mikroorganismen unter, ehe ihre Keimfähigkeit nachgewiesen werden konnte. Also ergab sich eine Unsicherheit der durch diesen Apparat erhaltenen Resultate.

Man mußte deshalb die Samen vor der Infektion von außen schützen, wozu der ganze Keimungsprozeß unter den Bedingungen der Asepsis durchgeführt werden mußte. Da aber die Samen selbst Mikroorganismenkeime in den Keimungsraum mitbringen können, wodurch das Infizieren der Samen untereinander erfolgt, muß man die einzelnen Samen in aparten Gefäßen keimen lassen.

Ein solches Keimenlassen, das auf den ersten Blick äußerst mühevoll erscheint, ist in der Tat nicht sehr schwierig. Für jeden Keimungsversuch sterilisierte ich ein kleines kupfernes Stativ mit 24 Probiergläsern (Tafel I). Diese von mir konstruierten Stative sind mit einem Scharnier versehen, und erlauben im geöffneten Zustande ein bequemes Durchmustern aller Probiergläser. Am Boden eines jeden Probierglases befand sich eine 2 cm hohe Flocke von hygroskopischer Watte, die mit 2 ccm destilliertem Wasser angefeuchtet wurde. Um das Herauspressen der Watte durch kochendes Wasser zu verhindern, wurde in die Probiergläser ein dünnes Röhrchen gestellt, dessen oberes Ende etwas über die Watte hinausragte. Das sterilisierte Stativ mit den Probiergläsern wurde in die Saatcamera eingestellt, und die durchgewaschenen Samen wurden mit sterilen Pinzetten in die Probiergläser gelegt. Jeder Keimungsversuch dauerte 14 Tage bei einer Zimmertemperatur von 20 bis 22° (im Sommer). Wie einige Versuche zeigten, behielten die während der 14 Tage ungekeimten Samen ihre Keimfähigkeit nur ausnahmsweise bei.

Die Resultate der Versuche mit den verschiedenen Konzentrationen des Formalins sind in folgender Tabelle zusammengestellt (s. auch Fig. 2).

Die Dauer der Einwirkung Std.	Die Konzentration der Formalinlösungen										Kontrollversuche
	1/8 %	1/4 %	1/2 %	1 %	2 %	4 %	8 %	16 %	32 %	40 %	
	Der Prozentsatz der gekeimten Samen										
1	100	100	100	100	86	86	73	88	92	100	100
2	100	86	71	74	31	26	36	75	87	96	100
4	80	44	24	0	0	0	0	16	84	82	100
8	76	24	0	0	0	—	0	0	60	88	100
16	20	0	—	—	—	—	—	—	60	72	100
32	0	0	—	—	—	—	—	—	32	72	100
64	—	—	—	—	—	—	—	—	0	46	76[1])
128	—	—	—	—	—	—	—	—	8	28	—
256	—	—	—	—	—	—	—	—	0	37,5	—

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, zeigen die stärksten Konzentrationen von Formalin (40%ige und 32%ige Lösungen) für die Erbsensamen außerordentlich schwache Giftigkeit. Selbst nach 256stündigem Aufenthalte im 40%igen Formalin keimten noch 37,5% der geprüften Samen.

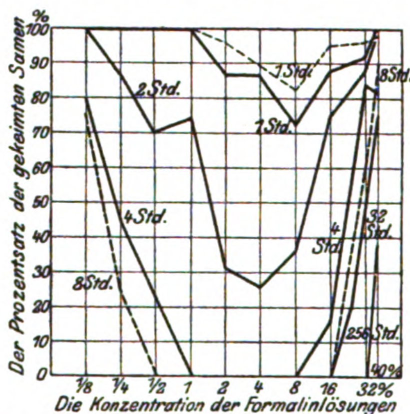


Fig. 2. Die Keimungskurven der Erbsensamen nach der Einwirkung von Formalinlösungen verschiedener Konzentration. Durch die punktierte Linie sind die Resultate des Keimungsversuches in fließendem Wasser nach der 1stündigen Einwirkung von Formalinlösungen angegeben.

Die erhaltenen Zahlen sind vielmehr noch vermindert, denn bei der Waschung der Samen wechseln unvermeidlich die ungiftigen konzentrierten Lösungen mit sehr giftigen verdünnten ab. Und diese giftigen Konzentrationen wirken gewiß nur schädlich auf die Keimfähigkeit der Samen.

Mit der zunehmenden Giftigkeit verlangsamt sich die Keimung der Samen. Diese Verlangsamung ist aus der Fig. 3 ersichtlich. In ihnen wird auf der Abszisse die Zahl der Tage vom Beginn der Versuche, auf den Ordinaten der Prozentsatz der bis zu jedem Tage gekeimten Samen abgemessen.

[1]) Im stehenden Wasser.

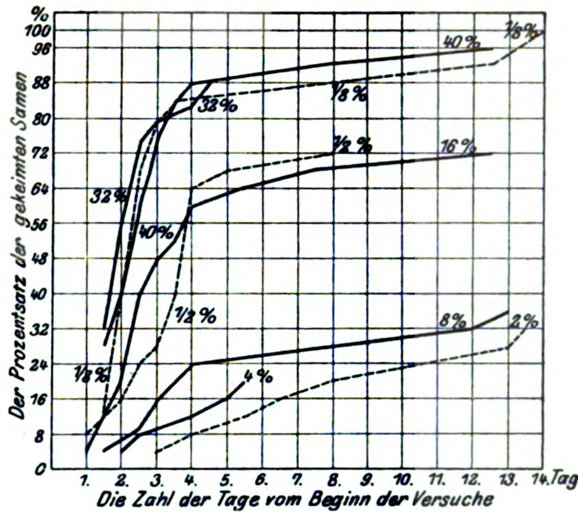


Fig. 3. Der Keimungsgang der Samen nach der 2stündigen Einwirkung von Formalinlösungen verschiedener Konzentrationen.

Bei den Untersuchungen der Wirkung der Formalinlösungen auf die Samen stellte ich Kontrollversuche mit den Samen an, die sich dieselbe Zeit im Wasser befanden, wie die Versuchsobjekte in Formalinlösungen. Da die Einwirkung der Formalinlösungen bis 256 Stunden dauerte, war es zu erwarten, daß in den Kontrollversuchen eine zu lange Aufbewahrung der Samen im Wasser schon schädigend auf ihre Keimfähigkeit wirken würde, und in der Tat fiel in meinen Versuchen nach der 64 stündigen Aufbewahrung der Samen im Wasser der Prozentsatz der gekeimten Samen von 100 auf 76. Alle ungekeimten Samen aber waren in Fäulnis übergegangen, was beweist, daß die Ursache ihres Nichtkeimens gewiß nicht in der Einwirkung des Wassers selbst, sondern in dem Mangel an Sauerstoff in Verbindung mit der Vermehrung der Mikroorganismen liegt.

Fließendes Wasser wirkt auf die Keimung der Erbsensamen nicht schädigend.

Ich habe daher die Anquellung der Samen im fließenden, sauerstoffreichen Leitungswasser vorgenommen. In diesem Falle zeigte sich nicht nur keine schädigende Wirkung des Wassers auf die Keimfähigkeit der Samen, sondern es keimten sogar alle Samen im Wasser sehr rasch und gleichmäßig (während ca. 72 Stunden).

Aus diesem Versuche geht hervor, daß fließendes Wasser ein sehr gutes Keimungsmittel für die Erbsensamen ist, und ich benutzte diese Erfahrung, um die im vorhergehenden erhaltenen Resultate nochmals auf einem anderen Wege zu kontrollieren. Als Keimapparat zu diesen meinen Versuchen diente eine Kochsche Schale von 10 cm Durchmesser. Diese Schale wurde unter einen dünnen, aber ziemlich kräftigen Wasserstrahl gestellt. Nachdem der Strahl im Zentrum eingerichtet war, wurden die Samen gleichmäßig bis zum Rande der Schale zurückgestoßen und befinden sich dort in einer ununterbrochenen Wirbelbewegung. Bei dieser Anordnung geht die Keimung nicht nur recht gut vor sich, sondern sie schützt auch während einer ziemlich langen Zeitdauer die Samen vor Fäulnis. Wenn sich auch nach 7 bis 10 Tagen einige Samen als von Mikroorganismen befallen erwiesen, so war doch der Prozentsatz dieser Samen unbedeutend, und aller Wahrscheinlichkeit nach waren dies nicht keimfähige Samen. Das große Übel dieser Methode ist nur der ganz erhebliche Verbrauch von Wasser. So verbrauchte ich bei 12 Versuchen, die zu gleicher Zeit ausgeführt wurden, täglich ca. 20000 l Wasser. In dieser Versuchsreihe wurden je 100 Samen einer 1 stündigen Formalineinwirkung unterworfen.

Die Resultate der Keimung dieser Samen im fließenden Wasser während einer Dauer von 14 Tagen sind in folgender Tabelle zusammengestellt (siehe auch Fig. 1).

Die Konzentratinn der Formalinlösungen	40%	32%	16%	8%	4%	3%	2%	1%	½%	0
Der Prozentsatz der gekeimten Samen	98	96	95	82	89	94	96	100	100	100

Der Vergleich dieser Tabelle mit den Resultaten der Grundserie der Versuche zeigt, daß die Keimungskurve in ihr wesentlich denselben Lauf nimmt. Die Kurve liegt aber etwas höher, d. h. die Keimfähigkeit der Samen ist um einiges größer, was auf die bessere Abwaschung des Giftstoffes zurückzuführen ist.

II. Schwefelsäure.

Beim Studium der Einwirkung der Schwefelsäurelösungen auf die Samen der Erbse nahm ich folgende Konzentrationen:

konzentrierte Schwefelsäure (Kahlbaum, spez. Gewicht 1,84), 32 normalige (Gramm-Äquiv.) Lösung, 16 normalige, 8 n-, 4 n-, 2 n-, 1 n-, $^{n}/_{2}$-, $^{n}/_{4}$-, $^{n}/_{8}$-, $^{n}/_{32}$-, $^{n}/_{128}$-Lösung. Die Dauer der Einwirkung war in allen Versuchen 2 Stunden.

Aus dem Folgenden ist die Einwirkung der Schwefelsäurelösungen auf die Samen der Erbse zu ersehen:

Konzentration der H_2SO_4-Lösung	$^{n}/_{128}$	$^{n}/_{32}$	$^{n}/_{8}$	$^{n}/_{4}$	$^{n}/_{2}$	n	2 n	4 n	8 n	16 n	32 n	Spez.Gew. 1,84
Prozentsatz der gekeimten Samen	94	92	76	48	24	49,5	24,5	92	100	100	96	100

Aus dieser Tabelle ergibt sich dieselbe Abhängigkeit zwischen Giftigkeit und Konzentration, wie auch bei Formalin. Gemäß der sich steigernden Konzentration nimmt die Giftigkeit der Schwefelsäure anfangs zu, um dann bei den stärksten Konzentrationen ganz beträchtlich zu fallen. Ich kann hinzufügen, daß in meinen früheren Versuchen die Samen der Erbse eine 16 stündige Aufbewahrung in konzentrierter Schwefelsäure ertrugen. Auch ist noch hinzuzufügen, daß die Erbsenkeimlinge nach der Einwirkung der Schwefelsäure viel besser aussahen, als nach der von Formalin.

III. Silbernitrat.

Aus der Gruppe der giftigen Schwermetall-Salze wählte ich Silbernitrat, das eine außerordentlich große Löslichkeit im Wasser aufweist. Die gebrauchten Lösungen waren: gesättigte Lösung, 8 normalige, 4 n-, 2 n-, 1 n-, $^{1}/_{2}$ n-, $^{1}/_{8}$ n-, $^{1}/_{32}$ n- und $^{1}/_{128}$ n-Lösung.

In dieser Versuchsreihe erwies sich die obenbeschriebene Waschung der Samen als ungenügend: die gewaschenen Samen wurden bei Lichte schwarz und ihre Keimfähigkeit wurde offenbar durch die zurückbleibende Giftmenge geschwächt. Ich verstärkte daher die Waschung etwas: vorher wurden die Samen in 4 l fließendem, destilliertem, sterilem Wasser, und dann noch in 10 bis 15 l durch Filtration sterilisiertem Leitungswasser durchgewaschen. Ich konnte damit das Schwarzwerden der Samen bei Lichte fast ganz beseitigen und ihre Keimfähigkeit war sehr erhöht, zum Beispiel:

	Prozentsatz der gekeimten Samen nach der 2 stündiger Einwirkung der $AgNO_3$-Lösungen	
	4 n-Lösung	2 n-Lösung
Gewöhnliche Waschung	45,8 %	12,5 %
Verstärkte Waschung	73,9 %	36,0 %

Die nach der 2 stündigen Einwirkung von Silbernitratlösungen erhaltenen Resultate sind, wie aus folgender Tabelle und der Zeichnung 4 ersichtlich, ähnlich den mit Schwefelsäure und Formalin erhaltenen.

Die Konzentration der Lösung	$^n/_{128}$	$^n/_{32}$	$^n/_8$	$^n/_2$	n	2 n	4 n	8 n	gesättigte Lösung
Der Prozentsatz der gekeimten Samen	100	83,3	83,3	20,8	8,7	36	73,9	95,8	92

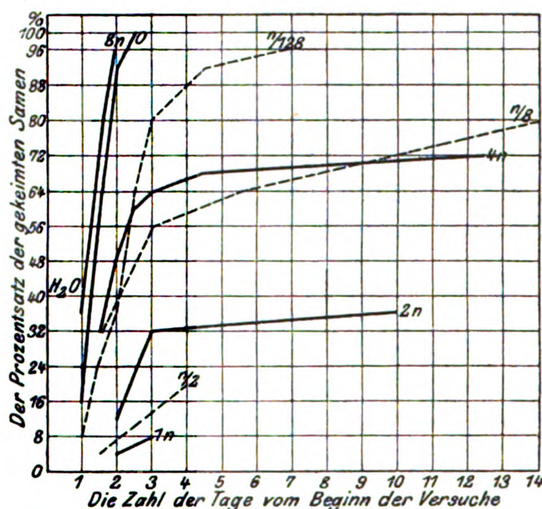


Fig. 4. Der Keimungsgang der Samen nach der 2 stündigen Einwirkung von Silbernitratlösungen verschiedener Konzentrationen.

In der Fig. 4 ist der Keimungsgang der Samen dargestellt. Bei der Verstärkung der benutzten Lösungen verlangsamt sich anfangs die Keimung der Samen, um später bei den noch mehr konzentrierten Lösungen sich wieder zu verkürzen.

Eine besondere Aufmerksamkeit verdient das Nebeneinanderstellen (Fig. 5) der erhaltenen Keimungskurven (resp. Giftigkeitskurven). Für die Schwefelsäure und Silbernitratlösung laufen

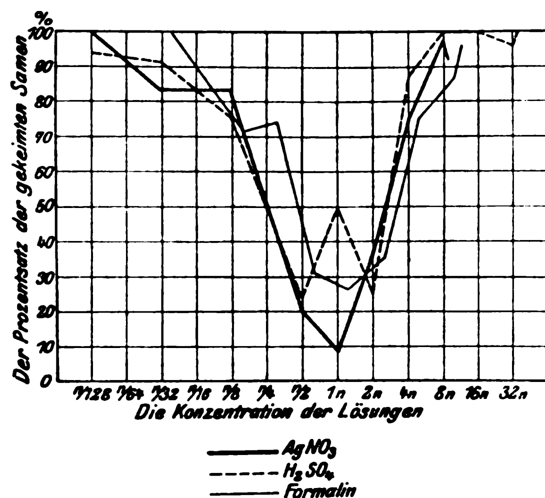


Fig. 5. Das Nebeneinanderstellen der Keimungskurven nach 2stündiger Einwirkung von Formalin-, Schwefelsäure- und Silbernitratlösungen verschiedener Konzentrationen.

die Kurven ziemlich gleich. Nur die 1-normalige Lösung von H_2SO_4 ergab eine verhältnismäßig zu große Keimfähigkeit der Samen. Wenn man die Konzentration der Formalinlösungen in ähnlicher Weise in Bruchteilen der normaligen Lösung ausdrückt, so sieht man, daß die erhaltene Kurve beiden obenerwähnten sehr nahe liegt. Dieses Zusammenfallen scheint sehr bedeutungsvoll zu sein, da es darauf hinweist, daß die Widerstandsfähigkeit der Samen gegen giftige Stoffe in erster Linie von den physikalischen Eigenschaften der benutzten Lösungen abhängt[1]).

Aus den oben beschriebenen Versuchsreihen ergibt sich die Vermutung, daß die Ungiftigkeit der stärksten Konzentrationen der Giftstoffe für die Samen eine allgemeine Erscheinung ist. Dieses gilt selbstverständlich nicht für alle Giftstoffe, da nicht bei ihnen allen wegen der begrenzten Löslichkeit die notwendigen Konzentrationen zu erreichen sind. Ich beabsichtige

---

[1]) Da für Formalinlösung die Polymerisation der Moleküle in konzentrierten Lösungen als nachgewiesen angesehen werden kann, so läßt vielleicht obenerwähntes Zusammenfallen der Kurven die Vermutung zu, daß auch bei vielen anderen Stoffen die Polymerisation der Moleküle in den konzentrierten Lösungen einen ähnlichen Gang durchmacht.

nicht in dieser kurzen Mitteilung auf die Ursachen der Ungiftigkeit der starken Konzentrationen näher einzugehen, nur muß ich erwähnen, daß aller Wahrscheinlichkeit nach diese Erscheinung ziemlich verwickelt ist. Erstens ist das Eindringen der stärksten Giftstofflösungen in die Samen sehr langsam, wobei die Beschaffenheit der Samenschale eine bedeutende Rolle spielen kann.

So z. B. blieben nach 124 tägigem Aufenthalt in 40 % Formalin noch ca. 20 % der Samen ungequollen, obgleich schon alle die Keimfähigkeit verloren hatten.

Zweitens behält das trockene Protoplasma der Samen eine sehr erniedrigte chemische Aktivität, es ist viel widerstandsfähiger gegen Giftstoffe, als das wasserreiche Protoplasma der tätigen Zellen.

Drittens darf man auch nicht außer acht lassen, daß die chemische Aktivität der Stoffe in den stärksten Konzentrationen ebenfalls sehr erniedrigt ist. Im Falle der Elektrolyten sind solche Lösungen nicht nur relativ, sondern auch absolut weniger dissoziiert, als die schwächeren Lösungen, womit im Zusammenhang die schwächere chemische Aktivität der ersteren steht.

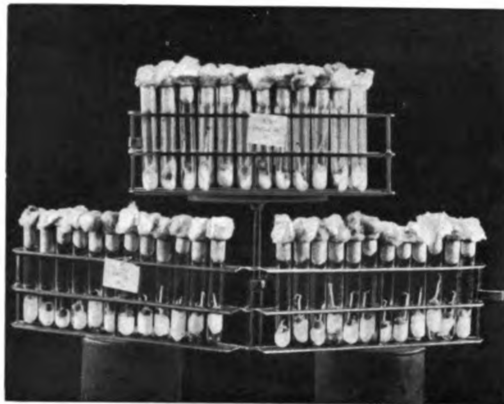
Was die Nichtelektrolyte anbetrifft, so ist in den stärksten Konzentrationen eine Assoziation der Moleküle und Polymerisation möglich. Im einzelnen ist dies für Formalin nachgewiesen[1]). Wie oben erwähnt wurde, ist aber auch bei den Elektrolyten in den stärksten Konzentrationen die Polymerisation der Moleküle wahrscheinlich. Den polymerisierten Molekülen ist natürlich auch eine schwächere Aktivität eigentümlich.

Die relative Bedeutung aller dieser Ursachen soll mit den weiteren Untersuchungen aufgeklärt werden.

Die Arbeit wird fortgesetzt.

---

[1]) Fr. Auerbach, zum Teil gemeinsam mit H. Barschall, Studien über Formaldehyd. I. Mitteilung. Formaldehyd in wässeriger Lösung. Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 22, H. 3, 1905.



Sterilisierbare Gestelle für Probiergläser.
Oben zusammengeklapptes, unten geöffnetes Stativ. In den Probiergläsern befinden sich keimende Erbsensamen.

Studien zur Lehre von der Blutgerinnung.
Physikalisch-chemische Vorgänge in ihrer Bedeutung für die Thrombinwirkung.

Von

M. Landsberg.

(Aus der medizinischen Poliklinik in Freiburg i. B.)

(Eingegangen am 23. Februar 1913.)

Mit 4 Figuren im Text.

I. Einleitung.

Seit den grundlegenden Untersuchungen von Alexander Schmidt[1]) gilt als fast allgemein anerkannt, daß die Gerinnung des Blutes in letzter Linie durch Zusammenwirken zweier Substanzen zustande kommt. Das sind das Fibrinogen und das Thrombin.

Das Fibrinogen ist ein globulinähnlicher Eiweißkörper, der sich hauptsächlich im Blutplasma, aber auch im Chylus, in der Lymphe und im Knochenmark findet. Was das Wesen des Thrombins betrifft, so sind die Meinungen darüber recht verschieden: nach Morawitz[2]) existiert das Thrombin als solches im Blute nicht, wohl aber seine Vorstufe, das Thrombogen. Das Thrombogen wird erst bei Gegenwart von löslichen Kalksalzen unter dem Einfluß eines Aktivators, der Thrombokinase, in eine aktive Form überführt.

A. Schmidt[3]), wie auch die Mehrzahl anderer Autoren, wie Hammarsten[4]), Morawitz, Arthus, Fuld-Spiro[5]) u. a. betrachten die Gerinnung des Blutes als eine fermentative Reaktion, die darin besteht, daß das gelöste (oder fein suspendierte) Fibrinogen durch die Ein-

---

[1]) A. Schmidt, Die Lehre von den fermentativen Gerinnungserscheinungen. Dorpat. 1876.

[2]) P. Morawitz, Die Gerinnung des Blutes (Handb. d. Biochemie, herausg. von C. Oppenheimer), II, 2, 56.

[3]) A. Schmidt, l. c.

[4]) Hammarsten, Lehrb. d. physiol Chem.

[5]) Arthus, Fuld und Spiro, zit. nach Morawitz, l. c.

wirkung von Thrombin als Fibrin ausgeschieden wird. Das Thrombin übernimmt hier also die Rolle eines Enzyms, das Fibrinogen diejenige des Substrates.

Die Annahme, daß das Thrombin ein Ferment ist, wird durch folgende, zum Teil schon von Schmidt[1]), zum Teil von späteren Autoren erhobenen Befunde gestützt: das Thrombin setzt in kleinen Quantitäten große Mengen von Fibrinogen um, ohne dabei seine gerinnungserregende Kraft zu verlieren; das Thrombin wird durch Erhitzen auf 100° inaktiv; was das Zeitgesetz der Wirkungsweise des Thrombins betrifft, so fanden Loeb[2]), Duclaux[3]) und Arthus[4]), daß zwischen der Fermentmenge und der Geschwindigkeit der Reaktion eine direkte Proportionalität besteht, nach Fuld dagegen wächst die Gerinnungsbeschleunigung mit der Quadratwurzel aus der Fermentmenge, was der Schütz-Borissowschen Regel entsprechen würde.

Diese Anschauungen werden aber nicht von allen Forschern geteilt.

Schon vor langer Zeit hat Wooldridge[5]) behauptet, die Gerinnung sei kein fermentativer Prozeß, sondern sie käme zustande durch eine Verbindung zweier Fibrinogene, die schon im strömenden Blute vorhanden sind. Die beiden Fibrinogene sollen sich in einem labilen Gleichgewichtszustand befinden, der durch bestimmte äußere Einflüsse gestört wird.

Der Grundgedanke der Auffassung von Wooldridge[6]), nämlich die Annahme einer Wechselwirkung der im Blute enthaltenen Kolloide, fand später seinen Ausdruck in der Theorie der Blutgerinnung, die von Nolf[7]) aufgestellt ist. Nach Nolfs Auffassung sind zum Zustandekommen der Blutgerinnung drei Körper nötig, die sich im Blute befinden: das Thrombogen, das Thrombozym und das Fibrinogen.

Diese drei Substanzen treten zusammen zu einer Verbindung, die, je nachdem ob sie reicher oder ärmer an Fibrinogen ist, zu Fibrin oder zu Thrombin wird. Das Thrombin soll nichts anderes sein, als ein fibrinogenarmes Fibrin. Durch Zusatz von Fibrinogen wird das Thrombin in Fibrin umgewandelt.

Diese drei Körper verbinden sich nur unter dem Einfluß thromboplastischer Substanzen. Darunter versteht Nolf nicht nur Gewebsextrakte, sondern auch alle Momente, die den physikalischen Zustand des Blutes verändern, wie z. B. Körper, die große Oberflächenenergien entwickeln, wie fein gepulvertes Glas, Kohle usw.

---

[1]) Schmidt, l. c.

[2]) Loeb, Biochem. Journ. 6, 21, 1907.

[3]) Duclaux, Traité de Microbiologie, Kap. 17 u. 39.

[4]) Arthus, zit. nach Morawitz, l. c.

[5]) Wooldridge, Die Gerinnung des Blutes. Leipzig 1895.

[6]) Wooldridge, l. c.

[7]) Nolf, Eine neue Theorie der Blutgerinnung. Ergebnisse der inneren Med. und der Kinderheilkunde 10, 1913.

Es handelt sich also nach Nolf nicht um einen fermentativen Vorgang, sondern um eine gegenseitige Fällung von Kolloiden.

Während sich Nolf und Wooldridge gegen das Thrombin als gerinnungserregende Substanz wenden, sind andere Autoren, wie Howell, Iscovesco[1]), Rettger[2]) und Stromberg[3]) der Meinung, daß das Thrombin wohl existiert und zum Zustandekommen der Blutgerinnung notwendig ist; seine Wirkung aber ist vielleicht nicht als eine fermentative aufzufassen.

Besonders bemerkenswert in dieser Richtung sind die Arbeiten von Rettger und Stromberg.

Rettger hat im Thrombin keine einzige Eigenschaft finden können, die für seine Fermentnatur sprechen würde.

Es gelang ihm, eine Thrombinlösung herzustellen, die durch Erhitzen bei 100° nicht inaktiv wurde. Ferner fand Rettger, daß das Thrombin nicht wie andere Fermente ein Temperaturoptimum besitzt, und endlich, daß das van't Hoff-Arrheniussche Gesetz bezüglich des Einflusses der Temperatur auf die Geschwindigkeit der Reaktionen keine Anwendung bei der Blutgerinnung findet.

Auch die Tatsache, daß das Thrombin, das im Serum inaktiv geworden ist, sich wieder reaktivieren läßt, spricht, nach Rettger, gegen die Fermentnatur des Thrombins.

Auch die Untersuchungen von Stromberg weisen darauf hin, daß die Blutgerinnung eher eine komplizierte Reaktion nicht fermentativen Charakters ist. Nach Strombergs Untersuchungen gestaltet sich das Zeitgesetz des Thrombins recht eigenartig. Während z. B. die Schütz-Borissowsche Regel für das Pepsin nur für geringe Konzentrationen des Fermentes gültig ist, ist sie beim Thrombin nur bei größeren Konzentrationen anwendbar. Bei absteigenden Mengen erlahmt das Thrombin viel rascher, als man dem Grade der Verdünnung nach erwarten könnte. Außerdem bestehen nach Stromberg direkt quantitative Verhältnisse zwischen dem Fibrinogen und dem Thrombin, was auch von Rettger[4]) behauptet worden ist. Besonders eigenartig ist nach Untersuchungen von Stromberg[5]) die Einwirkung der Temperatur auf die Geschwindigkeit der Gerinnung des Blutes: bei Erhöhung der Temperatur bis 17° wächst die Geschwindigkeit sehr stark, bei weiterem Steigen der Temperatur bleibt die Gerinnungsgeschwindigkeit immer gleich, bis ungefähr 40°, um nachher allmählich zu sinken.

Diese hier angeführten Ergebnisse der Untersuchungen von Stromberg brachten ihn zur Annahme, daß bei der Blutgerinnung nicht

---

[1]) Howell, Iscovesco, zit. nach Morawitz, l. c.

[2]) Rettger, The coagulation of Blood. Americ. Journ. of. Physiology 24, 400.

[3]) Stromberg, Methodisches über Blutgerinnung nebst Bemerkungen über das Wesen des Gerinnungsvorganges. Diese Zeitschr. 37, 177, 1911.

[4]) Rettger, l. c.

[5]) Stromberg, l. c.

eine, sondern mehrere Reaktionen gleichzeitig oder nacheinander verlaufen.

Auf Veranlassung von Prof. Morawitz habe ich den von Stromberg (s. vorher) ausgesprochenen Gedanken weiter verfolgt, denn es schien uns für die Beurteilung aller quantitativen Versuche mit Thrombin und Fibrinogen von der allergrößten Wichtigkeit, festzustellen, ob man denn hier wirklich eine einfache Reaktion zweier Substanzen vor sich hat, oder ob wir in der Gerinnungszeit nur die Resultante mehrerer chemischer Vorgänge vor uns sehen, die bald beschleunigend, bald verlangsamend auf die Hauptreaktion einwirken. Trifft diese Annahme zu, dann muß man natürlich mit allergrößter Skepsis alle jene Versuche betrachten, die darauf ausgehen, aus Beobachtungen an künstlichen Gerinnungsgemischen Schlüsse auf die Art des Vorganges, auf das Zeitgesetz usw. zu ziehen.

Rettger schließt z. B. aus seiner Kurve, daß die Gerinnung von Thrombin + Fibrinogen vielleicht gar kein chemischer Vorgang sei, da sie dem van't Hoff-Arrheniusschen Gesetze nicht im entferntesten enspricht. In der Tat steigt die Reaktionsgeschwindigkeit, wie auch Stromberg fand, bis etwa 17°, um von da an etwa bis 40° gleich zu bleiben.

Prof. Riesenfeld, Abteilungsvorsteher am chemischen Institut, hat mich bei meinen Untersuchungen durch Rat und Tat auf das Wirksamste unterstützt. Er hat mich darauf aufmerksam gemacht, daß der erste Teil (bis etwa 10°) der Kurve von Rettger durchaus dem van't Hoff-Arrheniusschen Gesetze entspricht, und äußerte die Vermutung, daß sich bei höheren Temperaturen hemmende Wirkungen irgendwelcher Art geltend machen müßten. Jedenfalls erschien ihm — mit Rücksicht auf den ersten Teil der Kurve — diese Annahme wahrscheinlicher, als die Vermutung Rettgers, daß vielleicht überhaupt keine chemische Reaktion sensu strictiori vorläge.

Alle diese Erwägungen ließen es wünschenswert erscheinen, der in der Arbeit von Stromberg enthaltenen Anregung zu folgen.

Meine Aufgabe war es, mit möglichst verschiedenen Gerinnungsgemischen den Einfluß der Temperatur auf die Gerinnungszeit zu studieren, um Anhaltspunkte zur Entscheidung der Hauptfrage zu gewinnen:

„Ist die eigentümliche Temperaturkurve der Gerinnung der Ausdruck eines einzigen Prozesses, oder die Resultante aus mehreren?"

II. Versuchsanordnung.

Stromberg[1]) hat seine Untersuchungen mit Schmidtscher Thrombinlösung und mit $MgSO_4$-Plasma ausgeführt; da aber die Wirkung der Temperatur bei chemischen und physikalischen Reaktionen von äußeren Bedingungen stark beeinflußt wird, habe ich meine Versuche auch mit anderen Agenzien angestellt.

Als Thrombin habe ich die Schmidtsche Thrombinlösung, frisches Serum und auch nach Schmidt aktiviertes Serum benutzt.

Die Thrombinlösung wurde in folgender Weise dargestellt: 1 Teil frischen Serums wurde mit 20 Teilen $95^0/_0$igen Alkohols versetzt. Dabei fallen alle Eiweißkörper des Serums mit dem Thrombin aus. Nach mehrtägigem Stehen wird das Präcipitat durch Filtrieren vom Alkohol befreit, im Exsiccator getrocknet und fein zerrieben. Kleine Mengen davon werden mit Wasser extrahiert. Das filtrierte Extrakt stellt eine leicht opalescente, eiweißarme Flüssigkeit dar und enthält recht große Thrombinmengen.

Eine natürliche Thrombinlösung ist das Blutserum. Sein Gehalt an Thrombin ist im ganzen nicht sehr erheblich: ein Teil des freien Thrombins wird vom Fibrin festgehalten, ein anderer Teil geht nach Gerinnung bald in eine inaktive Form — Metathrombin — (Morawitz[2]) über. — Das Metathrombin wird, wie schon Schmidt gezeigt hat, durch entsprechende Behandlung wieder in Thrombin umgewandelt[4]). Ich verfuhr in dieser Weise, daß ich bestimmte Mengen eines wenig wirksamen Serums mit derselben Quantität $^n/_{10}$-NaOH versetzte.

Das Gemisch wird bei Zimmertemperatur 15 bis 20 Minuten lang gehalten und nachher mit $^n/_{10}$-HCl zurückneutralisiert. Die

---

[1]) H. Stromberg, l. c.

[2]) P. Morawitz, Die Blutgerinnung. Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden. Hsg. von E. Abderhalden. 3, 225, 1911.

[3]) Morawitz, l. c.

[4]) Morawitz, l. c.

so behandelten Sera zeigen eine sehr hohe Aktivität, diejenige des nativen Serums stark übertrifft. Besonders groß ist der Unterschied zwischen dem frischen und aktivierten Pferdeserum.

Frisches Serum wurde in üblicher Weise von spontan geronnenem Blute abgehoben und im Falle einer Beimischung zelliger Elemente zentrifugiert oder filtriert.

Zur Zubereitung dieser Substanzen diente mir Rinder-, Kaninchen- und Katzenblut.

Als Fibrinogenlösungen, resp. als Substrat der Gerinnung, sind von mir das $MgSO_4$-Plasma nach A. Schmidt und die Fibrinogenlösung nach Hammarsten-Nolf[1]) benutzt worden.

1. $MgSO_4$-Plasma.

3 Teile Blut (frisch aus der Carotis) werden in 1 Teile konzentrierter (28 %iger) $MgSO_4$-Lösung aufgefangen. Das Blut wird kräftig durchgeschüttelt und zentrifugiert. — Das klare Plasma wird mit einer Pipette abgehoben, filtriert und im Eisschrank aufbewahrt. Vor der Verwendung wird das Plasma mit 0,9 %iger NaCl-Lösung 7fach verdünnt. (Eine 4fache Verdünnung mit destilliertem Wasser ist ebensogut verwendbar.)

2. Fibrinogenlösung nach Hammarsten-Nolf.

Frisches Pferdeblut wird in einem großen Gefäße aufgefangen, das eine $2\frac{1}{2}$ %ige Natriumoxalatlösung enthält. Das Verhältnis der Oxalatlösung zum Blute ist wie 1 : 20. Das Blut wird kräftig geschüttelt und stark zentrifugiert. Das Plasma wird abgehoben, filtriert und im Eisschrank aufbewahrt. Nach 24 Stunden wird das Plasma von dem sich bildenden weißen Niederschlage noch durch mehrmaliges Filtrieren befreit.

Eine bestimmte Menge kalten Plasmas wird mit dem gleichen Volumen konzentrierter, kalter, chemisch reiner NaCl-Lösung versetzt. Die dabei ausfallenden groben Flocken von Fibrinogen werden in Wasser mit einem Hornlöffel übertragen und dort gelöst. Die Lösung wird wiederum mit NaCl behandelt; das gefällte Fibrinogen wird abgehoben und in einem Quantum Wasser, das der ursprünglichen Menge von Plasma

---

[1]) Hammarsten, Lehrbuch der physiol. Chemie. 7. Aufl. S. 242.

gleicht, gelöst. — In dieser Weise verfährt man weiter, bis die wässerige Fibrinogenlösung oxalatfrei wird. — Die Lösung ist je nach Verlusten beim Übertragen des Fibrinogens mehr oder weniger konzentriert. Der Salzgehalt schwankt zwischen 2 und 4 % NaCl.

Die so hergestellte Fibrinogenlösung gerinnt spontan nicht, auch nicht durch Zusatz von $CaCl_2$ oder von Gewebsextrakten (Thrombokinase), wohl aber durch Thrombin.

III. Eigene Versuche.

A. Versuche mit $MgSO_4$-Plasma und Schmidtscher Thrombinlösung.

Ich habe zuerst die Versuche über den Einfluß der Temperatur auf die Geschwindigkeit der Gerinnung bei der Kombination $MgSO_4$-Plasma + Schmidts Thrombin ausgeführt.

Je 2 Reagensgläser, von denen die einen je 2 ccm Plasma, die anderen je 2 ccm Thrombin enthalten, werden in ein Wasserbad von bestimmter, möglichst konstant gehaltener Temperatur gebracht. Sobald der Inhalt der Röhrchen dieselbe Temperatur wie das Wasserbad zeigte, wurde dem Plasma das Thrombin zugegeben und die Zeit notiert. Durch mehrmaliges, aber sehr vorsichtiges Neigen des Röhrchens wurde die Gerinnung festgestellt und die Zeit wiederum notiert.

Es ist ziemlich schwer, denjenigen Zeitpunkt exakt anzugeben, wo die Gerinnung eingetreten ist; auf vollkommene, totale Gerinnung zu warten war nicht angezeigt wegen der sich rasch ändernden Temperatur des Wasserbades. Ich habe deswegen als Gerinnungspunkt denjenigen Zeitpunkt aufgefaßt, wo das Plasma (und das zugesetzte Thrombin) aus dem horizontal gehaltenen Röhrchen nicht mehr ausfloß.

Durch größere Übung erhält man in dieser Weise gut übereinstimmende Resultate.

Da die Gerinnung in hochgradiger Weise von der Beschaffenheit des Glases beeinflußt wird, habe ich mit möglichst sauberen, trockenen und gleichen Reagensgläsern experimentiert.

Die Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur läßt sich am besten durch Ausführung der Temperaturquotienten ausführen.

Als Temperaturquotienten für ein Temperaturintervall von 10° bezeichnet van't Hoff[1]) das Verhältnis der Reaktionskonstante k bei Temperatur $t + 10$ zu der Konstante bei Temperatur t; in einer Formel ausgedrückt:

$$Q_{10} = \frac{k_{t+10}}{k_t}.$$

Der Quotient schwankt nach van't Hoff für gewöhnliche chemische Reaktionen zwischen 2 und 3.

Aus technischen Gründen war es mir schwierig, die Temperatur des Wasserbades bei 0° konstant zu halten. Außerdem gerinnt das Plasma bei 0° nur sehr träge, und zu einer richtigen Gerinnung kommt es überhaupt nicht. Es bilden sich nur feine Fibrinflöckchen, die sich auf dem Boden des Glases absetzen. Deswegen habe ich nicht bei 0°, sondern bei + 1° gearbeitet.

Tabelle I[2]).

1 bis 10°.

Temperatur	Gerinnungszeit in Minuten						
1° 10°	9 4	9 1/2 3 1/2	16 6	17 7	18 7 1/2	22 9	35 14
Datum	17. VII.	8. VII.	9. VII.	10. VII.	18. VII.	20. VII.	14. VII.

Der Temperaturquotient beträgt hier im Durchschnitt 2,5.

Tabelle II.

5 bis 15°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten							
5° 15°	5 2 1/2	9 5	10 5	11 1/2 6	13 6 1/2	16 7 1/2	17 8	22 10
Datum	8. VII.	9. VII.	4. XI.	10. VII.	18. VII.	20. VII.	26. X.	14. VII.

Q_{10} gleicht für Intervall 5 bis 15° — 2.

[1]) van't Hoff, Vorlesungen über theoretische und physikalische Chemie. Heft 1. Braunschweig 1898.

[2]) Die hier angeführten Zahlen sind immer Durchschnittswerte von mehreren, am selben Tage und mit demselben Material ausgeführten Versuchen.

Tabelle III.
10 bis 20°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten								
10° 20°	7 4½	8½ 2	6 4	7½ 5½	9 5½	12½ 8	11 7	13 6	14 8
Datum	8. VII.	10. VII.	9. VII.	18. VII.	20. VII.	20. X.	26. X.	8. XI.	14. VII.

Quotient = 1,5.

Tabelle IV.
15 bis 25°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten						
15° 25°	6½ 5½	5 3	2½ 2	3½ 3	7½ 5½	8 7	9½ 8
Datum	18. VII.	9. VII.	8. VII.	6. XI.	20. VII.	26. X.	14. VII.

Quotient = 1,2.

Tabelle V.
20 bis 30°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten								
20° 30°	6 6	4 3	8 8	7 7½	8 7½	12 11½	2 2	5½ 5½	4½ 4½
Datum	8. XI.	9. VII.	14. VII.	26. X.	28. X.	23. X.	8. VII.	18. VII.	10. VII.

Quotient = 1,02.

Tabelle VI.
25 bis 35°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten							
25° 35°	6 7	7½ 10	2 4	11½ 13	5½ 6	2 4	3 4	8 10½
Datum	8. XI.		8. VII.	23. X.	18. VII.	5. XI.	9. VII.	14. VII.

Der Quotient beträgt hier —1,3; er ist negativ geworden.

Wie aus der Fig. 1 ersichtlich ist, wächst die Geschwindigkeit der Gerinnung bei steigender Temperatur nur bis 18 bis 20°, bis 30° bleibt sie beinahe unverändert, um oberhalb 30° zu sinken. Die Quotienten

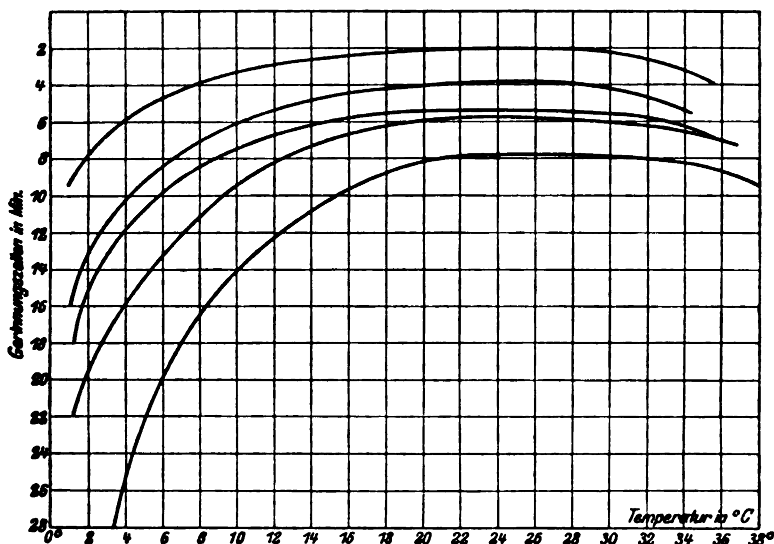


Fig. 1. $MgSO_4$-Plasma 2 ccm + Schmidts Thrombin 2 ccm.

fallen mit steigender Temperatur ab, um zwischen 25 und 35° negative Werte zu erreichen, wie die Tabelle VII zeigt.

Tabelle VII.

Temperaturintervall	Quotienten
1 bis 10°	2,5
5 „ 15°	2,0
10 „ 20°	1,5
15 „ 25°	1,2
20 „ 30°	1,02
25 „ 35°	− 1,3

Diese Resultate bestätigen also den Befund von Rettger[1]) und Stromberg[2]), die fanden, daß oberhalb 17 bis 18° die Erhöhung der Temperatur auf die Ge-

[1]) Rettger, l. c.
[2]) Stromberg, l. c.

schwindigkeit der Blutgerinnung keinen merkbaren Einfluß ausübt.

Die genannten Autoren aber haben die Verlängerung der Gerinnungszeiten erst bei 39 bis 41° eintreten sehen, während in meinen Versuchen schon zwischen 30 und 35° eine Verlangsamung der Reaktion festzustellen war.

B. Versuche mit Fibrinogen- und Thrombinlösung.

Bei niedrigen Temperaturen, also unterhalb 10°, verläuft die Gerinnung sehr langsam, und der Gerinnungspunkt läßt sich wegen mangelhafter Erstarrung sehr schwer feststellen. Da die Reaktion bei niedrigen Temperaturen nach allgemein gültigen chemischen Gesetzen verläuft und weil mich nur die Verhältnisse oberhalb 15° interessierten, erschien es mir überflüssig, den Verlauf der Gerinnung zwischen 0 und 10° näher zu untersuchen. Der Quotient für das Intervall 0 bis 10° = 2,8.

Tabelle VIII.

10 bis 20°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten					
10° 20°	10 1/2 5	20 9	25 8 1/2	28 13	24 11	17 7
Datum	5. X.	7. X.	10. X.	15. X.	13. X.	11. X.

Quotient = 2,4.

Tabelle IX.

15 bis 25°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten					
25° 35°	20 10	21 11	13 7	12 6	15 7	11 5 1/2
Datum	15. X.	16. X.	7. X.	12. X.	22. X.	11. X.

Quotient = 2,0.

Tabelle X.

20 bis 30°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten										
20°	5	6	7	5	7	$8^1/_2$	$7^1/_2$	9	13	$9^1/_2$	11
30°	3	3	5	$3^1/_2$	4	$5^1/_2$	5	$5^1/_2$	8	6	7
Datum	5. X.	3. X.	11. X.	4. X.	14. X.	10. X.	12. X.	7. X.	15. X.	22. X.	13. X.

Quotient = 1,7.

Tabelle XI.

25 bis 35°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten							
25°	4	$3^1/_2$	6	7	11	7	10	$5^1/_2$
35°	3	$2^1/_2$	$4^1/_2$	$4^1/_2$	$7^1/_2$	$5^1/_2$	$7^1/_2$	$4^1/_2$
Datum	14. X.	5. X.	12. X.	7. X.	16. X.	22. X.	15. X.	4. XI.

Quotient = 1,35.

Tabelle XII.

30 bis 40°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten							
30°	$3^1/_2$	$5^1/_2$	3	4	5	8	3	6
40°	5	6	4	5	5	8	4	$7^1/_2$
Datum	14. X.	7. X.	5. X.		12. X.	15. X.	4. X.	22. X.

Quotient = — 1,15.

Tabelle XIII.

Temperaturintervall	Quotienten
1 bis 10°	2,8
10 „ 20°	2,4
15 „ 25°	2,0
20 „ 30°	1,7
25 „ 35°	1,35
30 „ 40°	—1,15

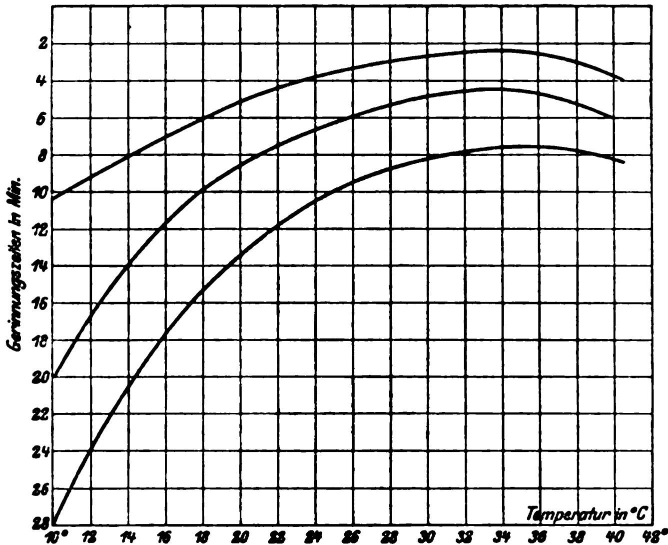


Fig. 2. Fibrinogenlösung 2 ccm + Thrombin (Schmidt) 2 ccm.

Die Fig. 2 ergibt folgendes:

Die Reaktionsgeschwindigkeit steigt beim Erhöhen der t^0 bis ungefähr 87°; bei 40° läßt sich schon eine Verzögerung der Reaktion wahrnehmen. Zwischen 37 und 40° liegt ein Punkt, wo die Reaktion am raschesten verläuft; das ist also der optimale Punkt.

Was die Quotienten betrifft, so sind sie im allgemeinen größer und fallen nicht so stark herab wie bei der Kombination $MgSO_4$-Plasma und Thrombin.

Rettger[1]), der ebenfalls mit Fibrinogenlösung experimentiert hat, bekam ganz andere, der Kurve I ähnelnde Resultate.

Es liegt das vielleicht daran, daß er mit Howellschem Thrombin[2]) seine Untersuchungen ausgeführt hat. Das Thrombin nach Howell ist viel eiweißreicher, wie das von mir benutzte Schmidtsche Thrombin[3]). Daß der Gehalt der Lösung an Eiweiß für die Reaktionsgeschwindigkeit nicht ohne Belang ist, will ich unten ausführlicher behandeln.

---

[1]) Rettger, l. c.

[2]) Morawitz, l. c.

[3]) Das getrocknete Alkoholpräcipitat des Serums wurde nur sehr kurze Zeit, etwa 10 bis 15 Minuten, mit Wasser bei Zimmertemperatur extrahiert.

C. Versuche mit nach Schmidt aktiviertem Serum und mit Fibrinogenlösung.

Bei diesen Versuchen habe ich stets zu 2 ccm Fibrinogenlösung 2 ccm mit $^{n}/_{10}$-NaOH aktivierten Serums zugegeben. Es wurden nur die t^0 oberhalb 10^0 berücksichtigt.

Tabelle XIV.
10 bis 20°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten			
10° 20°	34 15	22 10	46 20	60 27
Datum	15. XI.	16. XI.	17. XI.	20. XI.

Quotient = 2,2.

Tabelle XV.
20 bis 30°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten					
20° 30°	45 25	15 7	33 17	10 5	7½ 4	20 10
Datum	18. XI.	15. XI.	14. XI.	16. XI.	12. XI.	17. XI.

Quotient = 1,9.

Tabelle XVI.
30 bis 40°.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten						
30° 40°	7 4	17 10	6 3½	20 13	15 10½	10 6	5 3
Datum	15. XI.	14. XI.	13. XI.	11. XI.	10. XI.	17. XI.	16. XI.

Quotient = 1,6.

Tabelle XVII.

Temperaturen	Quotienten
10 bis 20°	2,2
20 „ 30°	1,9
30 „ 40°	1,6
40 „ 50°	Negative Werte

Die Reaktionsgeschwindigkeit steigt hier bis ca. 40° [1]), um von dort ab zu sinken. Auch hier haben wir es mit einem Temperaturoptimum zu tun, welches etwas oberhalb 40° liegt.

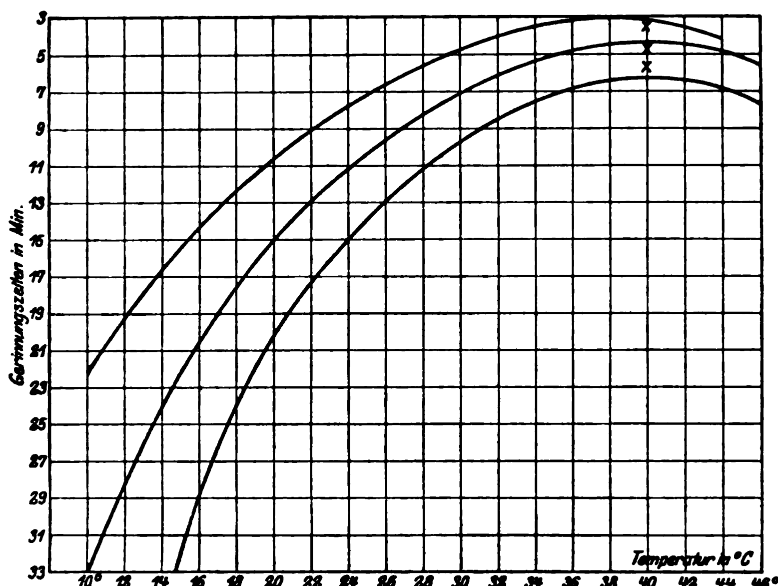


Fig. 3. Aktiviertes Serum + Fibrinogen.
× = „Optimum".

D. Versuche mit frischem Serum und mit $MgSO_4$-Plasma.

Die hier vorliegenden Verhältnisse ähneln denjenigen bei den Versuchen: Fibrinogenlösung + Thrombin. Deswegen erwähne ich hier nur die Quotienten.

Tabelle XVIII.

Temperaturintervalle	Quotienten
10 bis 20°	2,2
15 „ 25°	2,0
20 „ 30°	1,8
25 „ 35°	1,45
30 „ 40°	– 1,14

Wie die Tabelle XIX zeigt, liegt das Optimum zwischen 36 und 40°.

[1]) Vgl. Fig. 3.

Tabelle XIX.

Temperatur	Gerinnungszeiten in Minuten			
30°	3 1/2	7	6	5
36°	3	6	5	4 1/2
40°	4	8	7 1/2	5
Datum	22. XI.	23. XI.	26. IX.	27. IX.

E. Versuche mit aktiviertem Serum + $MgSO_4$-Plasma.

Die Gerinnungsgeschwindigkeit des $MgSO_4$-Plasmas beim Zusatz von aktiviertem Serum folgt denselben Gesetzen, wie die bei der Kombination: frisches Serum + $MgSO_4$-Plasma.

Ihr Temperaturoptimum liegt bei 37°.

IV. Ergebnisse der Temperaturversuche.

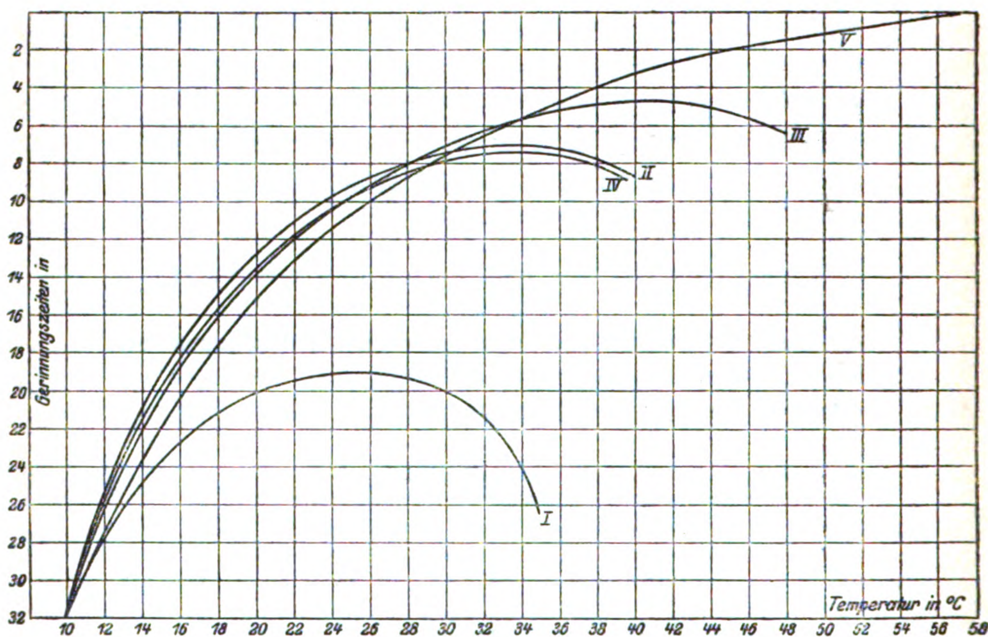


Fig. 4.

Kurve I = $MgSO_4$-Plasma + Thrombin.
„ II = Fibrinogenlösung + Thrombin.
„ III = $MgSO_4$-Plasma + natives Serum.
„ IV = Fibrinogenlösung + aktiviertes Serum.
„ V = Chemische, nicht enzymatische Reaktion mit $Q_{10} = 2$.

Die Kurventabelle IV ergibt folgendes:

Die Reaktion der Gerinnung wird beschleunigt mit dem Ansteigen der Temperatur bis 37° in Kombinationen: Serum + Plasma, aktiviertes Serum + Plasma, Fibrinogen + Thrombin; bis 41° in der Kombination aktiviertes Serum + Fibrinogen. Bei weiterer Wärmezufuhr wird die Gerinnungszeit verlängert.

Wesentlich anders liegen die Verhältnisse bei der Kombination Plasma + Thrombin. Hier sind die Quotienten schon im Intervall zwischen 10 und 20° viel geringer wie bei anderen Kombinationen: 1,7 gegen 2,3 (durchschnittlich); die Zunahme der Reaktion an Geschwindigkeit erfolgt beim Steigen der Temperatur nur bis 18 bis 20°. Im Intervall zwischen 20 und 30° bleibt die Gerinnungsgeschwindigkeit im großen ganzen die gleiche; der Quotient gleicht aber nicht 1, er übersteigt diese Zahl ein wenig (1,05), doch kann der geringe Unterschied (0,05) durch Versuchsfehler bedingt werden. Oberhalb 30° kommt es zu einer deutlichen Verlangsamung der Reaktion.

Somit stimmen die oben angeführten Befunde mit denen von Stromberg im wesentlichen überein: bei der Gerinnung des $MgSO_4$-Plasmas (durch Thrombin hervorgerufen) läßt sich ein scharf begrenzter optimaler Punkt nicht feststellen; die Reaktion steigt bis 17° an, zwischen 17 und 30° ist sie unverändert (nach Stromberg bis 39 bis 41°), um nachher zu sinken.

Diese Regel gilt nach meinen Untersuchungen nur für die Kombination Plasma + Thrombin. Andere Kombinationen, wie auch diejenige mit Fibrinogen + Thrombin, die nach Rettgers Versuchen dieselben Eigenschaften zeigt wie die Kombination $MgSO_4$-Plasma + Thrombin, besitzen einen ausgesprochenen optimalen Punkt, der, je nach der Kombination der Reagenzien, bald höher bald tiefer liegt.

Wie ist dieses eigenartige Phänomen, dem von Rettger[1]) und Stromberg[2]) solche Bedeutung zugesprochen wird, zu erklären?

Es liegt auf der Hand, daß der Prozeß der Blutgerinnung bei verschiedenen Kombinationen der in Reaktion eintretenden Körper eine optimale Temperatur, ja einen ausgesprochenen

[1]) Rettger, l. c.

[2]) Stromberg, l. c.

optimalen Punkt besitzt. Auch bei spontaner Gerinnung frischen Blutes können wir ein „Optimum" feststellen. Nach Bürker und Kottmann[1]) liegt es bei 40°, was auch dem „Optimum" bei der Kombination Fibrinogen + aktiviertes Serum entsprechen würde.

Die Quotienten, die ich aus den von Kottman angeführten Zahlen berechnet habe, stimmen mit meinen überein. Doch möchte ich auf diese Übereinstimmung bei den ganz verschiedenen Versuchsbedingungen keinen Wert legen. Auch Stromberg gibt zu, daß das von Rettger und von ihm beobachtete Phänomen bei der spontanen Gerinnung des Blutes nicht stattfindet. Nach seiner Meinung sind durch das Mitwirken der zelligen Elemente die Vorgänge bei der spontanen Gerinnung ganz verschieden von den Prozessen, die sich bei künstlicher Gerinnung abspielen.

Einige allgemeine Bemerkungen über das sogenannte „Optimum" mögen hier am Platze sein.

Daß ein Optimum für eine bestimmte Fermentreaktion keine konstante Größe ist, ist seit den Untersuchungen von Tamann[2]) über die Wirkung des Emulsins bekannt. Nach Bredig[3]) wird das Optimum von den vielen Faktoren, die einer Reaktion zugegen sind, sehr stark beeinflußt. — Was bedeutet denn überhaupt das Auftreten der sogenannten optimalen Temperatur bei den Reaktionen, die als fermentativ bezeichnet werden?

Es ist von jeher bekannt, daß die Erhöhung der Temperatur eine Beschleunigung jeder chemischen Reaktion bewirkt. Dieser Einfluß wurde von van't Hoff und Arrhenius in gesetzmäßige Form gebracht. Nach dem sogenannten R.G.T.-Gesetze wird beim Erhöhen der Temperatur um 10° die Geschwindigkeit einer jeden chemischen Reaktion verdoppelt bis verdreifacht.

Dieses Gesetz ist aber für fermentative Reaktionen nur innerhalb gewisser Grenzen gültig[4]); denn einerseits treffen wir hier sehr hohe Quotienten, z. B. 5,3 für die Zerlegung des

[1]) Bürker und Kottmann, zit. nach Morawitz, Die Blutgerinnung. Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. S. 232.

[2]) Tamann, Zeitschr. f. physikal. Chem. 18, 436, 1895.

[3]) Bredig, Elemente der chemischen Kinetik usw. Ergebnisse der Physiol. 1, 1, 1902.

[4]) Euler, Allgemeine Chemie der Enzyme. Ergebnisse der Physiol. 9, 1910.

Caseins durch Trypsin[1]), andererseits sehr niedrige, wie 1,3 bei der Reaktion zwischen Esterase (Lipase) und Äthylbutyrat[2]), 1,4 für Rohrzucker und Invertase[3]).

Außerdem ist ein Quotient nur für eine rein chemische, nicht enzymatische Reaktion konstant, während er bei Enzymreaktionen mit steigender Temperatur beständig abnimmt, um bei einer gewissen Temperatur negative Werte zu erreichen[4]). Diese beständige Abnahme des Quotienten, sowie das Auftreten des „Optimums", ist nur ein Ausdruck davon, daß bei einem fermentativen Prozesse neben der Hauptreaktion eine oder mehrere Nebenreaktionen zutage treten. Der Einfluß der Temperatur auf eine Fermentreaktion ist ein zweifacher: er äußert sich in der Reaktionsbeschleunigung, aber auch in der Inaktivierung des Enzyms, die die Reaktion nur verlangsamen kann. Die beiden Prozesse, die Beschleunigung der Hauptreaktion und die Zerstörung des Enzyms verlaufen nebeneinander.

Wie Tamann[5]) für die Reaktion zwischen Emulsin und Salicin zeigte, folgt die Inaktivierung des Enzyms dem R.G.T.-Gesetze. In dem Zeitpunkt, wo bei steigender Temperatur die Abschwächung des Enzyms größere Wirkung auf die Reaktion ausübt, wie der beschleunigende Faktor, wird die Reaktion verlangsamt. Bevor es zu dieser Verlangsamung kommt, ist die Reaktion auf der Höhe der Geschwindigkeit.

Das ist der optimale Punkt, das Optimum[6]).

Für die Mehrzahl der Enzyme liegt die optimale Temperatur zwischen 37^0 und 53^0[7]), was auch im allgemeinen für das Thrombin stimmen würde; nur die Reaktion zwischen $MgSO_4$-Plasma und dem Schmidtschen Thrombin zeigt ein abweichendes Verhalten. Wir müssen also annehmen, daß eine Form der Inaktivierung des Thrombins bei dieser Reaktion rascher vor sich geht als bei anderen Kombinationen und schon bereits bei 18^0 dem beschleunigenden Einfluß der steigenden Temperatur gleichwertig wird.

---

1) Bayliss, Das Wesen der Enzymwirkung. Dresden 1910.
2) Kastle und Loevenhart, zitiert nach Euler, l. c.
3) Euler, l. c. S. 329.
4) Euler, l. c.
5) Tamann, l. c.
6) Bayliss, l. c.
7) Vernon, Intracelluläre Enzyme. Ergebnisse der Physiol. 9.

Als Ursachen der frühzeitigen, also noch unterhalb der optimalen Temperatur auftretenden Inaktivierung der Enzyme nimmt Bayliss folgende Prozesse an:

1. Reversibilität der Reaktion.
2. Verbindung des Enzyms mit den Produkten der Reaktion.
3. Negative Autokatalyse.
4. Zerstörung oder Änderung der Enzyme durch dritte Stoffe.

Die ersten drei Punkte kommen für die Erklärung der eigenartigen Abschwächung des Thrombins bei 18° wahrscheinlich kaum in Betracht. Anders dagegen verhält es sich mit dem vierten Faktor, der, wie die umfassenden Arbeiten von Hedin[1]) gezeigt haben, eine hervorragende Rolle in der Hemmung der Enzymwirkung spielt.

Schon frühere Autoren zeigten, daß die Enzyme von vielen kolloidgelösten oder feingepulverten Stoffen aufgenommen und infolgedessen abgeschwächt oder zerstört werden. Hedin[2]) machte wahrscheinlich, daß es sich hier nicht um eine Zerstörung der Enzyme durch diese Substanzen handelt, sondern um eine an den Vorgang der Adsorption erinnernde Bindung zwischen dem Enzym und den oben genannten Körpern. Die Bindung darf aber nicht mit der echten Adsorption, die sich in krystalloiden Systemen abspielt, identifiziert werden. Die Hauptunterschiede bestehen darin, daß die von Hedin[3]) beschriebene Bindung mit steigender Temperatur wächst, während die echte Adsorption in den Lösungen mit steigender Temperatur abnimmt; außerdem ist die Hedinsche Adsorption nur wenig reversibel.

Die hier behandelte Bindung kann auch nicht im Sinne der Michaelisschen[4]) „anomalen Adsorption" gedeutet werden. Es fehlen ihr die für „anomale Adsorption", die sich zwischen kolloidalen Körpern abspielt, charakteristischen Eigenschaften:

---

[1]) Hedin, Zeitschr. f. physiol. Chem. **52**, **57**, **60**, **64**.

[2]) Hedin, Physikal. Chem. in der Biol. in Hammarstens Lehrbuch der physiol. Chem. VII. Aufl.

[3]) Hedin, Die Hemmung der Enzymwirkung. Ergebnisse der Physiol. **9**.

[4]) Michaelis, Dynamik der Oberflächen. S. 26 ff. Dresden 1909.

wie vollständige Irreversibilität, Unabhängigkeit der zu adsorbierenden Stoffe voneinander und schließlich die sogenannte Häutchenbildung.

Einfachheitshalber werden wir also die Bindung der Enzyme an dritte Körper im Sinne der Adsorption betrachten, gerade da Fälle beobachtet sind, bei denen „die Adsorption mit steigender Temperatur zunimmt, ohne daß man in diesen Fällen Grund hätte, neue Faktoren mit in Rechnung zu ziehen" (Freundlich[1]).

Hedin fand, daß fein gepulverte tierische Kohle eine starke Trypsinlösung zu inaktivieren imstande ist. Diese Inaktivierung ist durch Adsorption des Trypsins an die Kohle hervorgerufen. Nach Hedins Untersuchungen ist diese Bindung, die mit steigender Temperatur wächst, nur zum Teil reversibel: so z. B. läßt sich das Trypsin durch Wasser von der Kohle nicht befreien, wenn man aber die mit Trypsin beladene Kohle mit angesäuertem und darauf neutralisiertem Eierklar oder entsprechend behandeltem Serum versetzt, so wird das Trypsin wiederum frei.

Natives Eierklar adsorbiert z. B. das Labferment; und so werden recht starke Lablösungen durch Zusatz von Eierklar inaktiviert. Wenn man aber diese durch Eierklar inaktivierte Lablösung mit Säure behandelt nnd darauf neutralisiert, so wird die Bindung zwischen dem Adsorbens und dem adsorbierten Stoff gesprengt, das Lab freigemacht und die Lösung wieder aktiv.

Diese Reaktivierung der Fermente ist folgendermaßen zu erklären: Zwei adsorbierbare Stoffe beschränken sich in ihrer Adsorbierbarkeit, wenn sie gemischt sind, und derjenige Stoff, der mehr „Affinität" zum Adsorbens hat, wird gebunden. Er ist imstande, einen anderen, weniger fest gebundenen Stoff vom Adsorbens zu verdrängen[2]).

In unserer Kombination wirkt Kohle als Adsorbens, das Ferment und das angesäuerte Eierklar oder Serum wirken als adsorbierbare Stoffe.

Das Serum und das Eierklar müssen vorher angesäuert und neutralisiert werden, sonst adsorbieren sie das Ferment.

---

[1]) Freundlich, Kapitel: Adsorption im Handwörterbuch der Naturwissenschaften 1, 62.

[2]) Höber, Physik. Chemie der Zelle und Gewebe. III. Aufl., S. 278.

Durch diese Behandlung verlieren sie ihr aktives Adsorptionsvermögen gegenüber dem Enzym und werden nur von anderen Stoffen aufgenommen.

Daß natives Serum Körper enthält, die die Enzyme inaktivieren können, ist schon seit langem bekannt. Die hemmende Kraft des Serums wurde nachgewiesen von Hammarsten[1]) für Lab, Hedin[2]) für Trypsin, Ericksson[3]) für Emulsin usw. Diese Eigenschaft ist an Serumalbumin gebunden (Landsteiner[4]).

Alle diese Tatsachen, so kompliziert und wenig aufgeklärt wie sie sind, zeigen weitgehende Analogien mit den Prozessen, die sich bei der Gerinnung des Blutes abspielen. Besonders deutlich tritt die Analogie in der Reaktivierung des schwach aktiven Serums zutage.

Nach Morawitz wird das Thrombin im Serum (nach längerem Stehen) in eine unwirksame Form (Metathrombin) umgewandelt. Im Anschluß an die Untersuchungen von Hedin kann man, glaube ich, annehmen, daß es sich hier um eine Inaktivierung des Thrombins handelt, die durch Adsorption von seiten der Serumeiweißkörper verursacht ist. Durch Alkalisieren und Ansäuern verlieren die in Frage kommenden Eiweißkörper ihre bindende Kraft, und das Thrombin wird frei. Nach dieser Auffassung würde das Metathrombin nur durch Adsorption inaktiviertes Thrombin vorstellen. Diese Bindung ist nicht ganz irreversibel, und durch das Verfahren von Alex. Schmidt, nämlich durch Alkali- oder Säurewirkung gesprengt; in ähnlicher Weise wird das an Eierklar gebundene Lab durch Ansäuern und darauf folgendes Neutralisieren mit Alkali freigemacht.

V. Versuche über die Hemmung der Thrombinwirkung durch Adsorption.

Um mich zu überzeugen, daß das Thrombin adsorbierbar ist, habe ich Versuche angestellt, die die Fähigkeit des Thrombins, durch andere Stoffe adsorbiert zu werden, zeigen sollen.

---

[1]) Hammarsten, Lehrbuch der physiol. Chem. 7. Aufl., S. 69.
[2]) Hedin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 60.
[3]) Ericksson, Zeitschr. f. physiol. Chem. 72.
[4]) Landsteiner, Centralbl. f. Bakt. 27.

Versuchsanordnung.

10 ccm eiweißarmer Thrombinlösung (Schmidt) werden mit 2 Messerspitzen feingepulverter tierischer Kohle versetzt. Die Mischung wird ca. $1/2$ Stunde bei Zimmertemperatur gehalten, nachher durch doppelte Filter filtriert. Es zeigte sich, daß die gerinnungserzeugende Kraft des Filtrates gegenüber der ursprünglichen, mit Kohle nicht behandelten Thrombinlösung erheblich vermindert ist.

2 ccm unbehandelter Thrombinlösung erzeugen in 2 ccm $MgSO_4$-Plasma eine totale Gerinnung in 7 Minuten, während dasselbe Quantum des Filtrates erst in 45 Minuten eine totale Gerinnung 2 ccm $MgSO_4$-Plasmas zu bewirken vermag. Wenn man das Gemisch Kohle + Thrombinlösung mit etwas altem, an sich inaktivem Serum versetzt und erst nachher filtriert, so wird ein Teil des gebundenen Thrombins durch Serumproteine verdrängt, und das Filtrat ist wieder aktiv, jedoch nicht so stark, wie die ursprüngliche Lösung.

Substrat	Thrombinlösung	Geronnen in
2 ccm $MgSO_4$-Plasma +	2 ccm Filtrat (mit Serum vorbehandelt)	16,5'
2 ccm $MgSO_4$-Plasma	+ 2 ccm Filtrat (ohne Serum)	4,4'

Auch feingepulvertes Casein (Hammarsten) setzt die Wirksamkeit des Thrombins stark herab. Wenn man aber einer Mischung „Casein-Thrombin“ vor dem Filtrieren etwas NaOH zugibt und nachher mit HCl oder mit H_2SO_4 zurückneutralisiert, so ist das Thrombin wieder vorhanden.

Die obigen Versuche zeigen, daß das Thrombin wie auch Trypsin, Lab und Emulsin von Kohle und Casein, auch von Serumalbumin (Merck) aufgenommen und dadurch inaktiviert bzw. abgeschwächt werden. Diese adsorptive Bindung läßt sich sprengen durch die Methode, die von Schmidt allerdings unter ganz anderen theoretischen Voraussetzungen für das Reaktivieren des Metathrombins im Serum ausgearbeitet worden ist.

Da nun die Bindung eines Enzymes an ein Adsorbens mit steigender Temperatur zunimmt, so lag der Gedanke nahe, die rätselhafte Hemmung der Reaktionsgeschwindigkeit, die bei der Gerinnung von $MgSO_4$-Plasma durch das Thrombin bei 18° auftritt, durch die Adsorption des Thrombins erklären zu können.

Daß das Serum gerinnungshemmende Stoffe besitzt, war schon Schmidt bekannt, das soll auch folgender Versuch zeigen.

$t^0 = 17^0$		Fibrinogen	Gerinnungszeiten
	2 ccm Thrombin + 1/2 " NaCl (0,9%)	2 ccm	10′, 8′
	2 " Thrombin + 1/2 " altes Serum	2 "	31′, 24′

Die thrombinbindende Kraft des Serums steigt mit der Temperatur an, wie die Tabelle XX zeigt.

Tabelle XX.

Temperatur °C	2 ccm Thrombin + 2 " Fibrinogen + 1/2 " 0,9% NaCl	2 ccm Thrombin + 2 " Fibrinogen + 1/2 " Serum
	Gerinnungszeiten in Minuten	
16	10	30
20	7	27
27	5 1/2	24
30	4	20
33	3 1/2	20
36	3	20

Während bei 16° das Verhältnis zwischen den beiden Gerinnungszeiten (30 und 10) 3 beträgt, wird es bei 20° zu 4 Minuten, bei 30° zu 5 Minuten und bei 36° gleicht es 6 2/3 Minuten. Der Temperaturquotient für die erste Reihe beträgt 1,75, für die zweite Reihe nur 1,35.

Während die Reaktionsgeschwindigkeit in der ersten Reihe bis 30° ansteigt, zeigt sich in der zweiten Reihe eine Verlangsamung der Reaktion schon bei 30°.

Die erste Reihe zeigt ein Verhalten, das für die Reaktion zwischen dem Fibrinogen und dem Thrombin charakteristisch ist, die zweite Reihe dagegen erinnert an den Verlauf der Reaktion bei der Kombination Thrombin + $MgSO_4$-Plasma.

Daß die Hemmung der Wirkung von Thrombin unter natürlichen Verhältnissen, also im normalen Serum, mit steigender Temperatur stärker wird, zeigt folgender Versuch.

Frisches Kaninchenserum wird in den Eisschrank gestellt. Je 2 ccm desselben Serums werden in Reagensgläsern bei verschiedenen Temperaturen gehalten. Nach 30 Minuten werden alle Gläser auf eine bestimmte (Zimmer-)Temperatur gebracht. Es zeigt sich, daß diejenigen Röhrchen das stärkste (thrombinreichste) Serum enthalten, die in der Kälte gehalten worden sind.

Tabelle XXI.

Temperatur °C	Serum ccm	Fibrinogen ccm	Gerinnungszeit Minuten
5	1	2	14
10	1	2	18
20	1	2	31
30	1	2	80

Auf die nach Schmidt aktivierten Sera übt die Temperatur bis 30° keinen ausgesprochen hemmenden Einfluß. Die vorerwärmten Sera lassen sich durch Abkühlen nicht, oder nur wenig reaktivieren.

Die Bindung des Thrombins an die Eiweißkörper ist danach adsorptiver Natur. Sie ist nur zum Teil reversibel; sie steigt mit der Temperatur an.

Aus allen diesen Tatsachen geht hervor, daß das Serum außer einem gerinnungserregenden Stoff, dem Thrombin, noch einen oder mehrere gerinnungshemmende, thrombinbindende Substanzen besitzt[1]). Diese Körper befinden sich natürlich auch im Plasma[2]), in unserem Falle im $MgSO_4$-Plasma, das außerdem noch über das gerinnungshemmende Magnesiumsulfat verfügt.

Bei der Reaktion zwischen der eiweißarmen Schmidtschen Thrombinlösung und dem $MgSO_4$-Plasma spielen sich nicht ein, sondern mindestens zwei Prozesse ab. Der erste, die Reaktion zwischen dem Thrombin und dem im Plasma im „Sol"zustande sich befindenden Fibrinogen, scheint chemischer Natur zu sein. Der zweite Prozeß spielt sich zwischen dem Thrombin und (wahrscheinlich) Serumproteinen ab; er besteht in einer Bindung des Thrombins mit den Proteinen, die mit der Temperatur ansteigt. Wenn wir in dem ersten Prozesse die Hauptreaktion sehen, so müssen wir den zweiten als eine hemmende Nebenreaktion betrachten. Um 20° erreichen die beiden Prozesse die gleiche Kraft. Graphisch, in Kurvenform dargestellt, kreuzen sich aber die Kurven beider Prozesse bei 18° nicht, sie verlaufen bis 30° nebeneinander, weswegen auch die Reaktionsgeschwindigkeit die gleiche bleibt. Oberhalb 30°

---

[1]) Auch A. Schmidt hat einen gerinnungshemmenden Körper im Serum angenommen (Cytoglobin); Nolf nennt ihn Antithrombosin.

[2]) Morawitz, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 1903.

wird der hemmende Einfluß stärker als die Hauptreaktion, und die Reaktionsgeschwindigkeit beginnt zu sinken.

Außer Adsorption an Eiweißkörpern gibt es noch viele andere Momente, die an der Inaktivierung des Thrombins teilnehmen, gerade aber in unserem Falle scheint die Adsorption eine nicht zu unterschätzende Rolle zu spielen.

Das wird noch klarer erscheinen, wenn wir die Gerinnung in den Kombinationen berücksichtigen, bei denen eine adsorptive Bindung des Thrombins praktisch vernachlässigt werden kann.

Nehmen wir die Kombination Thrombin (Schmidt) und Fibrinogenlösung an; weder in der eiweißarmen Thrombinlösung noch in der Fibrinogenlösung sind nennenswerte Mengen Stoffe vorhanden, die das Thrombin zu binden imstande sind. In diesem Falle haben wir es in der Hauptsache mit einer einfachen Reaktion zu tun, die bei 37° ihr Optimum hat. Ganz anders verläuft die Reaktion, wenn die Thrombinlösung eiweißreich ist: hier müssen wir mit einer Adsorption des Thrombins an Albumine (denn die kämen nur in Betracht[1]), rechnen; dementsprechend konstatieren wir hier eine Verlangsamung der Reaktion schon unterhalb 37°.

Bei der Reaktion zwischen dem aktivierten Serum und der Fibrinogenlösung, die ihr Optimum bei 40° hat, kommt es ebenfalls nicht zu einer Inaktivierung des Thrombins durch Adsorption: durch das „Aktivieren“ sind große Mengen von Thrombin frei geworden; außerdem sind die mit Lauge und Säure vorbehandelte Eiweißkörper nicht imstande, das Thrombin zu binden.

Diese Hemmungskörper des aktivierten Serums, obwohl sie für das Thrombin unschädlich sind, können in eine Adsorptionsverbindung mit anderen Eiweißkörpern zusammentreten, auch mit denjenigen Proteinen des Plasmas, die ihrerseits das Thrombin adsorbieren können. Und so können wir den Vorgang erklären, daß in der Kombination aktiviertes Serum + Plasma die Hemmung des Thrombins praktisch nicht erfolgt.

---

[1]) Landsteiner, Centralbl. f. Bakt. 27, 156; zit. nach Hammarsten, l. c. S. 70.

Die Hemmungskörper des Plasmas können aber auch durch natives Serum gebunden werden. Dieser Vorgang spielt sich z. B. bei der Reaktion zwischen dem $MgSO_4$-Plasma und dem frischen Serum ab. Das Thrombin ist infolgedessen frei, die Reaktion erfährt bei 20° keine Hemmung.

Von diesem Standpunkte aus ließen sich auch andere Vorgänge bei der Blutgerinnung erklären. So z. B. das Phänomen von Bordet und Gengou[1]). Wenn man eine bestimmte Menge Serum (Serum A) zum Plasma zusetzt, so erfolgt natürlicherweise die Gerinnung; wenn man von diesem Gerinnsel das Serum abpreßt, so zeigt es sich, daß es (Serum B) wirksamer ist wie das primäre Serum (Serum A). Man könnte sich diesen Vorgang so vorstellen, daß im Serum A nur ein Teil des Thrombins im freien Zustande sich befindet, während der andere Teil durch Serumalbumine adsorbiert ist. Die Proteine des Plasmas, die wahrscheinlich größere Affinität wie das Thrombin zu den Serumeiweißkörpern besitzen, verbinden sich mit den Eiweißstoffen des Serums und verdrängen dadurch das Thrombin aus seiner Adsorptionsverbindung. Das Thrombin wird somit frei und das Serum B erscheint auch thrombinreicher wie das Serum A.

Zusammenfassung.

Die Temperaturkurve der Reaktionsgeschwindigkeit der Blutgerinnung ist eine Resultante aus mindestens zwei nebeneinander verlaufenden Reaktionen. Die eine, die Hauptreaktion, spielt sich zwischen dem Thrombin und dem Fibrinogen ab und ist aller Wahrscheinlichkeit nach chemischer Natur; die andere Reaktion, die der ersten entgegengesetzt wirkt, besteht in einer Hemmung der Thrombinwirkung infolge Adsorption des Thrombins durch gewisse Eiweißstoffe des Serums. Die Erhöhung der Temperatur, die die beiden Reaktionen beschleunigt, übt auf den gesamten Prozeß der Blutgerinnung einen zweifachen Einfluß aus: einen beschleunigenden, indem sie ein Ansteigen der Hauptreaktion bewirkt, und einen verzögernden, indem sie die gerinnungshemmende Nebenreaktion steigert.

---

[1]) Bordet und Gengou, Recherches sur la Coagulation du Sang Annales Institut Pasteur 18, 15.

Die Temperaturkurve ist somit in hohem Grade von der Versuchsanordnung abhängig. In Kombinationen, bei denen die Adsorptionsmöglichkeit des Thrombins vermindert bzw. ausgeschaltet ist, verläuft die Reaktion der Gerinnung gleich einer fermentativen Reaktion, die zwischen 35 und 40° ihr „Optimum" besitzt. Bei der Kombination $MgSO_4$-Plasma + Schmidts Thrombin tritt infolge günstiger Verhältnisse für die Adsorption des Thrombins durch Eiweißkörper des Plasmas bei 17° bis 20° eine Hemmung der Reaktionsgeschwindigkeit ein.

Die Adsorption des Thrombins durch Proteine des Serums steigt mit der Temperatur; sie ist nur zum Teil reversibel.

Die Umwandlung des Thrombins des Blutserums in das inaktive Metathrombin ist durch Adsorption des Thrombins hervorgerufen. Das „Aktivieren" des inaktiven Serums nach A. Schmidt besteht in einer Sprengung der Adsorptionsbindung des Thrombins.

Die Hemmung der Thrombinwirkung durch Adsorption spricht nicht gegen den enzymatischen Charakter des Thrombins, da auch viele andere Fermente durch Adsorption in ihrer Wirkung gehemmt werden.

Das eigentümliche Zeitgesetz, die Temperaturkurve, die relative Niedrigkeit der Temperaturkoeffizienten, sowie ihr rasches Abfallen mit steigender t^0, alle diese Momente, die angeblich gegen die Fermentnatur des Thrombins sprechen sollten, verdanken ihren Ursprung der Adsorption des Thrombins durch die Eiweißkörper des Serums.

Über das Vorkommen von Kephalin und Trimyristin in der Leber.

Von

Armando Frank.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 17. März 1913.)

Als Kephalin hat Thudichum[1]) ein aus Gehirn erhaltenes, in Äther lösliches, in Alkohol unlösliches Monaminophosphatid bezeichnet, aus dem er bei der Spaltung Glycerinphosphorsäure Stearinsäure, eine ungesättigte Fettsäure, die „Kephalinsäure", dann Cholin und diesem nahestehende Basen erhielt. Neuere Untersuchungen von Koch[2]) und E. Neubauer[3]) machten das Vorhandensein einer Cholingruppe im Kephalin zweifelhaft, sie ergaben nur die Anwesenheit einer monoalkylierten Base. Ferner ist die Kephalinsäure durch Cousin[4]) und Parnas[5]) als eine der Linolsäure nahestehende oder mit ihr identischen Säure erkannt worden.

Obgleich die Charakterisierung des Hirnkephalins als eines chemischen Individuums noch zu wünschen übrig läßt, pflegt man doch die an anderer Stelle gefundenen Monaminomonophosphatide, die die auffallenden Löslichkeitsverhältnisse des Hirnkephalins — Löslichkeit in Äther, Unlöslichkeit in kaltem Alkohol — aufweisen, dem Kephalin beizuzählen, wobei es späteren Untersuchungen vorbehalten bleibt, zu zeigen, wie nahe die Verwandtschaft zwischen den einzelnen Gliedern dieser

---

[1]) Thudichum, Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Tiere. Tübingen 1901.

[2]) W. Koch, Zeitschr. f. physiol. Chem. **36**, 134, 1902.

[3]) E. Neubauer, diese Zeitschr. **21**, 321, 1909.

[4]) Cousin, Journ. de pharm. et de chim. **29**, 101, 1906.

[5]) J. Parnas, diese Zeitschr. **22**, 411, 1909.

„Kephalingruppe" ist. Zu dieser Gruppe gehört sicher ein von F. Falk[1]) aus peripheren Nerven und ein von Stern und Thierfelder[2]) aus Eigelb dargestelltes Produkt. Ferner hat Nogueira[3]) in der Rinderniere ein anscheinend der Kephalinreihe angehörendes, aber nicht analysiertes Phosphatid beschrieben und daß kephalinähnliche „Lipoide" bei Tieren und Pflanzen verbreitet vorkommen, geht aus Beobachtungen von Koch und Woods[4]), sowie von Schulze und Winterstein[5]) hervor.

Über das Vorkommen eines Kephalins in der Leber liegt keine direkte Angabe vor, doch haben Koch und Woods gefunden, daß der Ätherextrakt der Leber viel durch alkoholische Bleiacetatlösung fällbaren Phosphor enthält, was sie auf einen Gehalt an Kephalin beziehen. Daß die Eigenschaften des „Jecorins" auf Anwesenheit eines Kephalins hindeuten, wird später zu erörtern sein.

I. Das Leberkephalin.

Darstellung: 4 kg Rindsleber wurden in frischem Zustande in der Hackmaschine zu feinem Brei zermahlen und in einem großen Emailtopf in mehrere Liter siedenden Wassers gerührt. Nach dem Aufkochen wurde eine halbe Stunde weitergekocht und dann die Masse in einem Koliertuch abgepreßt. Dieser Vorgang wurde 3 mal wiederholt, so daß Glykogen, Zucker und Salze fast quantitativ entfernt wurden. Nachdem der Leberrückstand außerdem noch durch eine Handpresse möglichst von Wasser befreit worden war, wurde er im Luftstrom bei 40° getrocknet, fein zermahlen und mit kaltem, wasserfreien und frisch destillierten Aceton auf der Schüttelmaschine extrahiert, bis sich das Aceton nur noch schwach gelb färbte.

Aus dem eingeengten Aceton krystallisierte nach längerem Stehen ein weißlicher Körper aus, der sich als Trimyristin erwies und auf den später zurückzukommen ist. Ferner ließen sich aus dem Acetonrückstand durch verschiedene Trennungen mit Alkohol, Äther, Aceton, Essigester (kalt und warm) durch Abkühlen auf — 10° usw. Cholesterin, Fette von verschiedenem Schmelzpunkt, Phosphatide und Salze (Chloride und Sulfate) erhalten.

---

[1]) F. Falk, diese Zeitschr. 13, 153, 1908.

[2]) Stern und Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 370, 1907.

[3]) Nogueira, diese Zeitschr. 16, 370, 1909.

[4]) Koch und Woods, Journ. of Biolog. Chem. 1, 201, 1905.

[5]) Schulze und Winterstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. 40, 112, 1903.

Das Leberpulver wurde dann einer erneuten Extraktion mit leicht siedendem Petroläther bis zur Erschöpfung unterworfen und der Extrakt durch Zentrifugieren von einer geringen Menge trübender Substanz befreit. Die klare, braune, leicht fluorescierende Lösung wurde im Vakuum bei 40° abdestilliert und der dunkelbraune Rückstand in wenig absolutem Äther gelöst. Er löste sich restlos, und die Lösung verhielt sich in bezug auf Aussehen genau wie die in Petroläther. Hierauf wurde mit wasserfreiem Aceton gefällt, wobei ein Körper ausfiel, der sich bald in zähen Klumpen am Boden des Gefäßes absetzte. (Wir wendeten Aceton statt Alkohol an, weil wir uns durch einen Vorversuch überzeugt hatten, daß sich der Niederschlag bei Acetonfällung besser absetzte als bei Fällung mit absolutem Alkohol.)

Die überstehende, gelbgefärbte Acetonätherlösung wurde abdekantiert und der Niederschlag von neuem in Äther gelöst. Die Lösung erfolgte rasch und hatte dasselbe Aussehen wie die vorhergehende. Hierauf erneute Fällung und mehrfache Wiederholung der Prozedur. Nach ca. 10 bis 12 maliger Fällung fiel der Niederschlag in schönen kleinen, hellbraunen Flocken aus, die sich sehr rasch als feiner, körniger Bodensatz absetzten; man konnte nun bemerken, daß beim Wiederauflösen der Niederschlag nicht mehr ganz in Lösung ging, selbst nicht bei großem Ätherüberschuß und bei längerem Stehen. Der ätherunlösliche Rückstand sammelte sich am Boden des Gefäßes an und wurde durch Zentrifugieren entfernt. Mit dem Abzentrifugieren, Fällen und Lösen wurde nun so lange fortgefahren, bis sich die Acetonfällung klar und restlos in Äther löste. Im ganzen wurde ca. 18 bis 20 mal gelöst und gefällt, was nicht ohne große Verluste an Substanz abging. Die Ätherlösung war dabei immer noch von rotbrauner Farbe und zeigte leichte Fluorescenz. Nach der letzten Acetonfällung wurde der Körper gut mit Aceton und absolutem Alkohol gewaschen, vom Alkohol abzentrifugiert, rasch auf eine Tonplatte gebracht und im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet.

Die beim Umfällen entfernten Beimengungen waren verschieden, teils anorganischer, teils organischer Natur. In einem sehr vorgeschrittenen Stadium wurde ich einmal durch das Auskrystallisieren nicht unerheblicher Mengen von Kochsalz überrascht. Auch aus dem zuletzt aus der Ätherlösung abzentrifugierten Niederschlag konnte durch Chloroform ein darin unlöslicher Rückstand abgetrennt werden, der sich z. T. in Wasser löste, und dann eine schwache Chlor- wie auch eine ziemlich starke Schwefelsäurereaktion gab. Es waren also Chlorid und Sulfat durch das ganze Verfahren mitgeschleppt worden.

Das in Aceton und Alkohol unlösliche Produkt stellte sich nach dem Trocknen als eine feinkörnige Masse von hellbraunem, erdigem Aussehen dar, die sich sehr leicht zu einem amorphen Pulver zerreiben ließ. Es war löslich in wasserhaltigem Äther (in absolutem Äther ist es nach dem Trocknen unlöslich), ferner

löslich in Petroläther, Benzol und Chloroform, unlöslich in kaltem und heißem Alkohol und in Aceton. Im Wasser quoll es auf und gab dann eine kolloidale Lösung. Aus der ätherischen Lösung wie auch aus Petroläther wurde es durch absoluten Alkohol und Aceton gefällt; desgleichen aus der kolloidalen, ca. 1 $^0/_0$ igen wässerigen Lösung durch Salzsäure, Chlornatrium und am besten durch Bariumchlorid.

Bei monatelangem Stehen an der Luft färbte es sich dunkelbraun. Es war sehr hygroskopisch, zerfloß jedoch nicht an der Luft.

Die Molischsche Probe gab es mit ganz schwachroter Farbe, doch ging das Rot bald in Braun über. Bei der Reduktionsprobe mit Fehlingscher Lösung trat geringe Verfärbung ein ohne Abscheidung von Kupferoxydul. Nach dem Kochen mit verdünnter Säure erfolgte bei der Reduktionsprobe ebenfalls rasche Verfärbung, wiederum ohne Abscheidung von Kupferoxydul.

Die Substanz begann bei ca. 175° sich zu bräunen und verkohlte bei ca. 200°, ohne eigentlich zu schmelzen. Die Jodzahl, bestimmt nach Hübl, wurde zu 19,3 gefunden.

Analyse.

Die Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung wurde durch Mischen mit Bleichromat und Kaliumdichromat ausgeführt, die Stickstoffanalyse nach Dumas.

0,1576 g Substanz: 0,3300 g CO_2 und 0,1356 g H_2O. C = 57,10 $^0/_0$ und H = 9,62 $^0/_0$.

0,1546 g Substanz: 0,0217 g $Mg_2P_2O_7$. P = 3,91 $^0/_0$.

0,1319 g Substanz: 2,1 ccm N (19,5°, 715 mm). N = 1,72 $^0/_0$.

Das Verhältnis N : P = 1 : 1,03.

0,1546 g Substanz ergaben bei der Schwefelbestimmung keine wägbaren Mengen von Bariumsulfat.

Der Nachweis von Natrium ließ sich nicht erbringen. Die Substanz hinterließ weder beim Verbrennen für sich im Sauerstoffstrom noch auf Zusatz von Ammonnitrat weiße Asche.

Die vorliegende Substanz erweist sich also als ein Monaminomonophosphatid vom Typus der Kephaline, zu denen es nach seinen wesentlichen Eigenschaften (amorphes, hygroskopisches Pulver, am Licht gelb werdend, löslich in Äther und Chloroform, unlöslich in Alkohol und Aceton, ungesättigte Fettsäure enthaltend) gehört.

Auch die elementare Zusammensetzung zeigt ausreichende Übereinstimmung mit den Kephalinanalysen anderer Autoren:

Autor	Herkunft	Schmelzpunkt	C	H	N	P	O
Thudichum .	Gehirn	—	60,0	9,38	1,68	4,27	24,66
Koch	„	—	59,5	9,80	1,75	3,83—3,85	—
Cousin . . .	„	—	—	—	1,82—1,86	3,73—3,89	—
Neubauer . .	„	175°	61,99—62,12	9,85—9,87	1,65—1,69	3,44—3,45	—
Parnas . . .	„	174°	—	—	1,65—1,69	3,87—3,90	—
Falk	Periphere Nerven	174°	55,75	9,66	1,94	4,42	—
Stern u. Thierfelder . . .	Eigelb	—	59,62—59,73	9,62—9,84	1,57	3,60—3,67	—
	Leber	Zersetzungspunkt 175°	57,10	9,62	1,72	3,91	—

Die angeführten Werte für Hirn-, Nerven-, Eigelb- und Leberkephalin zeigen eine genügende Übereinstimmung, um die Annahme zu rechtfertigen, daß es sich um homologe Stoffe handelt. Eine schärfere Charakterisierung ist nur von einer genaueren Bestimmung der Spaltungsprodukte zu erwarten, die aber zurzeit selbst für das relativ zugängliche Hirnkephalin aussteht. Aus diesem Grunde kann auch die auffallend niedrige Jodzahl des Leberkephalins nicht Bedenken gegen seine Zuordnung zur Kephalingruppe erwecken, zumal bekannt ist, daß langdauernde Darstellung auch die Jodzahl des Hirnkephalins erniedrigt.

II. Über die Beziehung des Leberkephalins zum Jecorin.

Wie bekannt, hat E. Drechsel[1]) unter dem Namen Jecorin eine zuerst aus der Pferdeleber erhaltene Substanz beschrieben, die Stickstoff, Schwefel, Phosphor und Natrium enthielt, in Wasser quellbar, in Äther löslich, in Alkohol unlöslich war, alkalische Kupferlösung reduzierte und bei der Spaltung Stearinsäure lieferte. Drechsel gab ihr die Formel $C_{105}H_{185}N_5SP_3Na_3O_{46}$, ließ es aber zunächst unentschieden, ob es sich dabei um ein chemisches Individuum oder ein Gemenge handelt. Ähnliche Substanzen wurden dann mehrfach dargestellt und untersucht[2]). Die erhaltenen Produkte zeigten aber so große Verschiedenheit in

[1]) E. Drechsel, Journ. f. prakt. Chem. N. F. **33**, 425, 1886.

[2]) Baldi, Du Bois-Reymonds Arch. Physiol. Abt. Suppl. **100**, 1887. — Jacobsen, Centralbl. f. Physiol. **6**, 368, 1892; Skand. Arch. f. Physiol. **6**, 262, 1895. — Manasse, Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**, 478, 1895. — Drechsel, Zeitschr. f. Biol. **33**, 86, 1896. — Henriques, Zeitschr. f.

Zusammensetzung und Eigenschaften, daß die Zweifel an der chemischen Individualität des Jecorins immer festeren Halt erhielten[1]).

Wie berechtigt solche Zweifel sind, geht aus jeder Nebeneinanderstellung der erhaltenen Analysenzahlen hervor.

Der hohe und wechselnde Aschegehalt und das ganz inkonstante Verhältnis der einzelnen Bestandteile zueinander, z. B. N:P, schließt die Annahme einer Einheitlichkeit von vornherein aus. Zum selben Resultat führt ein Vergleich der Angaben über den Kohlehydratgehalt. Bei manchen Jecorinen fehlend (Offer, Meinertz, Waldvogel und Tintemann, Baskoff), ist er bei anderen schon durch einfache Reduktionsprobe nachzuweisen (Drechsel, Baldi usw.). Bei einzelnen Präparaten wieder bedarf es intensiver Säurespaltung, um zu einer positiven Reduktionsprobe zu kommen (Manasses Nebennierenjecorin). Der Gehalt an Glucose wird sowohl bei den einzelnen Autoren als auch bei den verschiedenen Jecorinen derselben Forscher sehr ungleich angegeben.

Als gemeinsames positives Merkmal bleibt nur die Löslichkeit in Äther, Unlöslichkeit in Alkohol und der Phosphorgehalt. Da das nun gerade auch Eigenschaften sind, die dem Leberkephalin zukommen, so ist zu erwägen, ob die Jecorine, und zwar speziell das Leberjecorin, nicht einfach als ein Gemenge bzw. eine lockere Verbindung des Kephalins mit Kohlehydraten, Salzen usw. aufzufassen ist.

Diese Vorstellung ist insofern nicht neu, als bereits Bing in einer Reihe von Untersuchungen nachgewiesen hat, daß die Lecithine mit verschiedenen ätherunlöslichen organischen und

---

physiol. Chem. **23**, 244, 1897. — Bing, Centralbl. f. Physiol. **12**, 209, 1898; Skand. Arch. **9**, 335, 1899. — Offer, Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte, Meran 1905, II. Teil, 408. — Waldvogel, Centralbl. f. Stoffwechsel- u. Verdauungskrankh. **4**, 405, 1903. — Waldvogel u. Tintemann, Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. **15**, 97, 1904. — Meinertz, Zeitschr. f. phys. Chem. **44**, 371, 1905. — Siegfried u. Mark, Zeitschr. f. phys. Chem. **46**, 492, 1905. — H. Mark, Über das Jecorin, Diss. Leipzig 1907. — Waldvogel u. Tintemann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 129, 1906. — P. Mayer, diese Zeitschr. **1**, 81, 1906. — E. Letsche, Zeitschr. f. physiol. Chem. **53**, 43, 1907. — Baskoff, Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 395, 1908; ebenda **61**, 426, **62**, 162, 1909.

[1]) Man vgl. die Angaben von Hammarsten in seinem Lehrbuch (7. Aufl., S. 329), von Thierfelder (dessen Analyse 7. Aufl., S. 161), von Bang, (Biochem. Handlex. **3**, 233).

anorganischen Salzen ätherlösliche Gemenge, oder, wie er annimmt, lockere Verbindungen zu bilden imstande sind. Er unternahm es, Lecithin und Glucose in Alkohol zu lösen, den Alkohol zu verdampfen und den Rückstand mit Äther zu extrahieren. Auf diese Weise erhielt er eine Substanz, die im wesentlichen die Reaktionen des Jecorins gab. Das Jecorin ist deshalb nach seiner Ansicht Lecithinglucose. Ferner fand **Bing**, daß auch Arabinose, Lävulose, Galactose, Maltose und Saccharose mit Lecithin analoge „Verbindungen“ von inkonstanter Zusammensetzung eingehen. Er brachte ferner Chlornatrium, Natriumlactat, Natriumoxybutyrat, Kaliumacetat, Natriumbenzoat und Sublimat in alkoholischer Lösung mit Lecithin zusammen. Als Zeichen, daß die Körper miteinander reagiert hatten, dienten die Löslichkeitsverhältnisse nach Einengung der alkoho-

Autor	Drechsel	Baldi	Mark	Waldvogel u. Tintemann Wasser-jecorin	Waldvogel u. Tintemann Alkohol-jecorin	Mayer	Baskoff	Baskoff	Biernadsky[1])	Manasse	Letsche I	Letsche II
Organ	Leber	Leber	Leber	Leber	Leber	Leber	Leber	Leber(glucosefreies) Jecorin	Leber	Nebennieren	Blut	Blut
C	51,48	46,89	39,67	34,3—44,0	40,9—42,2	55,79	50,39	—	48,63	41,43	41,07	44,61
H	8,18	7,96	6,39	6,4— 8,2	7,1— 7,8	4,14	7,29	—	7,68	7,16	6,03	5,22
N	2,86	4,58	5,18	8,1— 9,8	8,0— 9,4	2,59	3,12	2,45	2,67	0,3	8,41	8,66
P	3,44	2,52	1,85	2,0— 3,1	2,0— 3,4	1,37	2,89	3,48	2,88	4,44	0,37	0,95
S	1,45	2,37	2,21	—	—	1,17	1,82	—	—	1,8	1,1	0,56
Na	2,72	5,72	5,89	—	—	3,54	2,87	1,12	—	—	wenig	wenig
Cl	fehlt	—	—	—	—	—	0,49	—	—	—	—	—
Asche	12,09	—	1,57	—	—	—	12,79	10,35	—	—	—	—
Glucose	—	—	27,69—31,47	—	—	18,2	14,09	keine	—	—	—	—
P : N	1:1,84	1:4,02	1:6,17	1:8,89—6,98	1:8,9—6,11	1:4,03	1:2,38	1:1,56	1:2,04	1:0,15	1:50,21	1:20,1

[1]) Zitiert nach Baskoff, Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 404, 1908.

lischen Lösung. Das Lecithin ging auch da die verschiedensten „Verbindungen“ ein, und Bing nimmt an, daß das Jecorin eine Verbindung sei, die außer Zucker noch Natriumsalze enthält, wodurch auch das von den anderen Autoren bei der Elementaranalyse gefundene Natrium erklärt sei.

Mayer-Karlsbad[1]) studierte ebenfalls das Verhältnis von Lecithinglucose zu Jecorin. Er findet zwar, daß die beiden schon wegen des Natrium- und Schwefelgehaltes nicht identisch seien, hält aber jedenfalls das Jecorin für kein einheitliches Produkt. Am wahrscheinlichsten scheint es ihm, daß beim Eindampfen alkoholischer Lecithin-Zuckerlösungen die beiden Substanzen sich in ihren Löslichkeitsverhältnissen derart beeinflussen, daß die Glucose äther- und benzollöslich wird. Er meint, daß vielleicht eine sogenannte feste Lösung vorliege oder auch, daß es sich um eine Molekularverbindung oder um eine Adsorptionserscheinung handle.

Läßt man die Frage beiseite, inwieweit man hier berechtigt ist, von chemischen Verbindungen zu sprechen, so bleibt als positives Ergebnis, daß Lecithin mannigfache, sonst in Äther unlösliche Stoffe in Äther, Benzollösung usw. überzuführen vermag, und dann von diesen Lösungsgenossen sehr schwer zu befreien ist.

Das gleiche gilt vom Hirnkephalin. Schon Thudichum hebt diese Tatsache besonders hervor und gibt auch ein Verfahren an „zur Entfernung einer gewissen Menge von Alkalien und Erdsalzen“. Fränkel und Neubauer[2]) erwähnen ebenfalls die unangenehme Eigenschaft des Kephalins, mit den verschiedensten Salzen in physikalische Reaktion zu treten. Und auch Parnas[3]) bemerkt, daß er als Aschenbestandteile des Kephalins Ammoniak, Kalk und Kali gefunden hat.

Die Vorstellung Bings läßt sich somit ohne weiteres auf Kephalin übertragen. Ja sie entspricht hier besser den Tatsachen. Denn Lecithin ist äther- und alkohollöslich, so daß die Fällbarkeit des Lecithinkomplexes durch Alkohol etwas Auffallendes bleibt[4]), während diese Fällbarkeit beim Kephalin,

---

[1]) l. c.

[2]) l. c.

[3]) l. c.

[4]) Es bleibt nach neueren Erfahrungen zu erwägen, ob Bing kephalinfreies Lecithin in der Hand gehabt hat.

das in Alkohol fast unlöslich ist, von vornherein zu erwarten ist.

Zur Prüfung dieser Vermutung habe ich folgende Versuche angestellt: Aus Menschenhirnen nach der von Parnas angegebenen Methode dargestelltes Kephalin wurde mit wenig Wasser zu einem Brei angerührt und in 4 Proben geteilt, denen Traubenzucker, Glykogen, Kochsalz und Natriumsulfat in etwa gleichem Mengenverhältnis zugesetzt wurde. Nach innigem Mischen wurden die Proben im Exsiccator getrocknet und nach dem Trocknen mit Äther extrahiert. Alle Proben zeigten ziemlich gleiches Verhalten. Es blieb ein geringer Rest ungelöst, von dem die ätherische Lösung abfiltriert und durch Verdunsten im Luftstrom eingeengt wurde; dabei fiel ein Teil der beigemengten Substanzen wieder aus. Es wurde deshalb die ätherische Lösung absitzen gelassen und ev. filtriert, dann mil Alkohol gefällt. Das Kephalin mit seinen Beimengungen fiel in zähen Klumpen aus, die sich ziemlich rasch zu Boden setzten. Die überstehende Flüssigkeit war ziemlich trüb, und da sie sich auch nach mehrstündigem Stehen nicht klar absetzte (eine ähnliche Erfahrung machten auch Bing und Mayer bei ihren Versuchen mit Lecithin und Traubenzucker), wurde abdekantiert und der Bodensatz von neuem in Äther gelöst, wobei wieder ein Teil ungelöst blieb. Dieser wurde abfiltiriert; danach zweite Fällung und Wiederholung des gesamten Prozesses. Nach der dritten Umfällung wurden die Proben auf den Gehalt an den beigemengten Stoffen untersucht.

Die beiden Proben mit Traubenzucker und Glykogen wurden mit verdünnter Salzsäure hydrolysiert und auf ihre Reduktionsfähigkeit untersucht. Diese fiel in beiden Fällen positiv aus. Die anderen Proben wurden im Platintiegel verascht und auf ihren Gehalt an Chlor bzw. Schwefel geprüft. Auch diese Reaktionen fielen positiv aus.

Das Hirnkephalin besitzt somit in außergewöhnlichem Maße die Fähigkeit, Beimengungen in seine Lösungen herüberzuziehen. Besonders auffällig ist dies den Sulfaten und dem Glykogen gegenüber, da diese Stoffe in organischen Solventien zumeist unlöslich sind. (Vielleicht erklärt sich aus der Beobachtung am Glykogen, daß manche Jecorine [so das aus Nebenniere dargestellte] nicht direkt, wohl aber nach Säurehydrolyse reduzierten.)

Dieser ganze Sachverhalt macht es fast unzweifelhaft, daß die als Leberjecorin beschriebenen Substanzen einfach Gemenge verschiedener Stoffe mit Kephalin gewesen sind, und man muß dem Ergebnis von Mark beistimmen, der die Bezeichnung der aus der Leber extrahierten Produkte mit einem eigenen Namen, als „Jecorin", für unberechtigt erklärt. Dabei ist allerdings vorausgesetzt, daß das Leberkephalin sich dem Hirnkephalin gleich verhält, was indes nach den Erfahrungen unseres Laboratoriums alle Wahrscheinlichkeit für sich hat.

III. Trimyristin.

Aus dem Acetonextrakt krystallisierte ein weißlicher Körper in geringer Menge aus, der in Chloroform und heißem absoluten Alkohol leicht löslich war und aus dem letzteren beim Erkalten wieder ausfiel. Durch mehrfaches Umkrystallisieren erreichte er bei 57° (unkorrigiert) Konstanz des Schmelzpunktes Die Krystalle erwiesen sich unter dem Mikroskop als kugelige Aggregate von Nadeln.

Wir vermuteten anfangs, daß es sich um ein schon früher von Goldschmidt[1]) in der Rinde der Rindsnebenniere gefundenes Neutralfett, Dipalmitostearin[2]), vom Schmelzpunkt 58,5 bis 59° handle, mußten aber bald davon wieder abkommen, da der Schmelzpunkt sich nicht höher als 57° treiben ließ.

Die Analysen sprachen für Trimyristin, dessen Schmelzpunkt bei 56,6° liegt.

0,0866 g Substanz: 0,2389 g CO_2 und 0,0940 g H_2O.

	Gefunden	Berechnet für Trimyristin: $C_{45}H_{86}O_6$
C	75,25 %	74,73
H	12,14 %	11,99

Um den Körper weiter zu identifizieren, wurde er durch mehrstündiges Kochen mit alkoholischer Kalilauge am Rückflußkühler verseift. Nach dem Ausfällen mit Salzsäure wurde eine Säure erhalten, die aus absolutem Alkohol in mikroskopischen Blättchen krystallisierte; sie wurde mehrfach umkrystallisiert, bis sie konstant bei 54° schmolz. Der Schmelzpunkt der reinen Myristinsäure liegt bei 53,8°. Die Mischprobe mit reiner Myristinsäure ergab den gleichen Schmelzpunkt.

Trimyristin ist bis jetzt in Pflanzenfetten (besonders in der Muskatbutter) und im Lebertran nachgewiesen, während Myristinsäure in tierischen Fetten ziemlich verbreitet ist. Ob das Vorkommen dieses Fettes in der Leber im Zusammenhang steht mit den geringen Mengen von Myristinsäure, die in der Galle ausgeschieden werden, und in welchen Beziehungen es etwa zum intermediären Stoffwechsel der Leber steht, ist zurzeit nicht zu entscheiden.

---

[1]) Max Goldschmidt, Zur Chemie der Nebennierenrinde. Diss. Straßburg 1910.

[2]) Irrtümlich dort als Palmitodistearin bezeichnet.

Zuckerfreie Gärung bei Stereoisomeren.

Von

Paul Mayer (Karlsbad).

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 15. März 1913.)

Es ist bekannt, daß die Gärungsfähigkeit der Zuckerarten aufs engste von ihrer sterischen Konfiguration abhängig ist. Nachdem nun für eine Reihe von Nichtzuckerstoffen die Vergärbarkeit durch Hefe von Neuberg und seinen Mitarbeitern[1]) erwiesen ist, war es von besonderem Interesse festzustellen, ob sterische Verschiedenheiten auch den Vorgang der sogenannten zuckerfreien Gärung beeinflussen.

Substanzen, an denen man diese Frage verfolgen konnte, liegen in den Körpern der Oxalessigsäuregruppe vor. Für die Salze der Oxalessigsäure ist nach der Ansicht von Wohl[2]) die Ketostruktur wahrscheinlich, d.-h. es kommt ihnen die Formel MOOC.CH_2.CO.COOM zu. Die freie Oxalessigsäure aber dürfte die tautomere Enolstruktur COOH.CH:C(OH).COOH besitzen. Für diese Auffassung spricht, daß es nach den Untersuchungen von Fenton und Jones[3]), Nef[4]), Wohl und Oesterlin[5]), Michael[6]), sowie Wohl und Claussner[7]) möglich

---

[1]) Neuberg und Hildesheimer, diese Zeitschr. **31**, 170, 1911. — Neuberg und Karczag, ebenda **36**, 68, 1911 u. folg.

[2]) Wohl, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **40**, 2282, 1907.

[3]) Fenton und Jones, Journ. chem. Soc. **1900**, S. 77.

[4]) Nef, Annalen S. 276, 331.

[5]) Wohl und Oesterlin, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **34**, 1139, 1901.

[6]) Michael, ebenda **39**, 203, 1906.

[7]) Wohl und Claussner, ebenda **40**, 2308, 1907.

ist, zwei verschiedene freie Oxalessigsäuren in Substanz darzustellen. Die zwei Modifikationen unterscheiden sich durch Schmelzpunkt, Verbrennungswärme und Leitfähigkeit. Da beide den Charakter von Enolen haben, so kommen für sie die Formeln der folgenden beiden stereoisomeren Äthylenverbindungen in Betracht:



(Oxymaleinsäure) (Oxyfumarsäure)

Für die maleinoide Form der Oxalessigsäure haben Neuberg und Tir[1]) sowie Neuberg und Karczag[2]) bereits die glatte Vergärbarkeit durch Hefen und Hefenenzyme dargetan.

Die isomere fumaroide Form habe ich auf ihre Befähigung zur Gärung aus den angegebenen Gründen einer Prüfung unterzogen. Als Ausgangsmaterial diente die Oxymaleinsäure, die ich in größeren Mengen (zwecks Anstellung von bereits in Angriff genommenen Tierversuchen) aus Oxalessigester nach der Methode von Simon[3]) bereitet habe. Die so erhaltene Säure schmolz bei 152°, wodurch sie als maleinoide Form gekennzeichnet ist. Zur Überführung in das fumaroide Isomere verfuhr ich nach den Angaben von Wohl und Claussner[4]). Die freie Oxymaleinsäure wurde im Mörser mit möglichst wenig konzentrierter H_2SO_4 durch kräftiges Verreiben in Lösung gebracht und dann unter Kühlung in einer Eiskochsalzmischung durch Eintragen von Eisstückchen ausgefällt. Durch weitere Verarbeitung nach den Angaben der genannten Autoren erhielt ich die Oxyfumarsäure vom Schmelzpunkt 183° (Wohl und Claussner geben 184° an).

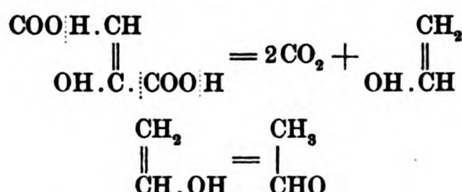
Zur Prüfung des Gärungsvermögens wurde stets eine frisch bereitete 1%ige Lösung der Oxyfumarsäure benutzt; und zwar wurden für jeden Gärversuch 15 ccm der 1%igen Lösung mit 1 g der betreffenden Hefe im Reagensglase bis zur Bildung einer gleichmäßigen Emulsion durchgeschüttelt. Mit

---

[1]) Neuberg und Tir, diese Zeitschr. 32, 323, 1911.
[2]) Neuberg und Karczag, ebenda 36, 72, 1911.
[3]) Simon, Compt. rend. 137, 855, 1903.
[4]) Wohl und Claussner, l. c.

sämtlichen Hefen, zwei untergärigen und vier obergärigen Reinzuchthefen des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin und einer aus München bezogenen Bierunterhefe, gerät die Oxyfumarsäure in lebhafteste Gärung. Die Gärung setzt außerordentlich rasch ein, wie aus nachstehender Tabelle hervorgeht.

Der Zerfall führt wie bei der Oxymaleinsäure zu Kohlensäure und Acetaldehyd im Sinne der Formel



Der entstandene Acetaldehyd konnte durch Destillation des Hefegutes übergetrieben und in Form des p-Nitrophenylhydrazons vom Schmelzpunkt 127° isoliert werden.

In derselben Zeit, wo die Carboxylase der Hefe die Oxyfumarsäure spaltet, ist die wässerige Lösung der Säure selbst unter gleichen Bedingungen völlig beständig.

Tabellarische Übersicht.

1%ige Lösung von Oxyfumarsäure	Kubikzentimeter Kohlendioxyd nach			
	½ Std.	1 Std.	4 Std.	20 Std.
Ohne Hefe	0,0	0,0	0	0,25
Mit Hefe A	2,0	3,0	6	11,00
" " M	2,5	4,0	5	10,00
" " II	2,5	3,5	5	10,00
" " XII	2,0	4,0	6	11,00
" " D	1,5	4,0	7	11,00
" " U	2,0	3,5	5	8,00
Mit Münchener Bierhefe	2,5	4,0	8	11,00

Von den genannten Hefen sind A, M, II und XII obergärig, D, U und die letztangeführte Rasse untergärig. Die Hefen allein zeigten innerhalb 4 Stunden sämtlich keine Selbstgärung, nach 20 Stunden waren Spuren von Gas, d. h. weniger als 0,5 ccm, in einigen Fällen vorhanden. Bemerkt sei noch, daß 11 ccm die maximale Kapazität der benützten Gärungsröhrchen nach Schrötter betrug.

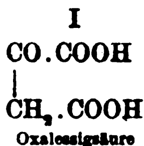
Weiter war es von Interesse festzustellen, ob der Vergärungsvorgang rein enzymatischer Natur, d. h. vom Leben der Hefe trennbar ist.

Dieser Nachweis gelang auf doppelte Weise. Genau unter den gleichen Bedingungen wie mit lebender Hefe kann man die 1 %ige Oxyfumarsäure mit Trockenhefe nach v. Lebedew, die keine lebenden Zellen mehr enthält, in lebhafte Gärung versetzen. Bereits nach 1 Stunde findet man 6 ccm CO_2, nach 20 Stunden völlige Ausgärung des Röhrchens.

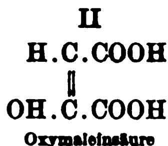
Zweitens gelingt es, die Oxyfumarsäure mit dem zellfreien Hefemacerationssaft nach v. Lebedew ebenfalls zu vergären. Verreibt man im Mörser 15 ccm unverdünnten Saft mit 0,15 g fester Oxyfumarsäure, so entsteht in dem proteinreichen Saft ein Eiweißgerinnsel. Ohne Rücksicht auf dieses füllt man in das Schröttersche Gärröhrchen über und beobachtet nun, wie nach einiger Zeit von den zu Boden gesunkenen Eiweißflocken aus eine lebhafte Kohlendioxydentwicklung einsetzt. Offenbar wird die Carboxylase durch das ausfallende Eiweiß mehr oder minder vollständig mit niedergerissen, und es ist höchst interessant, daß trotzdem sehr bald das Ferment in Wirksamkeit tritt. Nach 20 Stunden haben sich rund 8 ccm Gas gebildet, während eine Kontrollprobe des Saftes, wie stets, frei von Selbstgärung befunden wurde. Auch diese Versuche erweisen die relativ hohe Widerstandskraft der Carboxylase.

Schließlich habe ich mich auch davon überzeugt, daß die Lösung des Kaliumsalzes, das man durch Neutralisation der Oxyfumarsäure mit eiskalter Kalilauge gegen Lackmus darstellt, mit lebender Hefe gleichfalls gärbar ist.

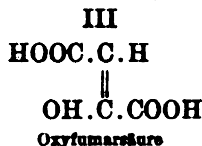
Wie eingangs erwähnt, kommt den Salzen der Oxalessigsäure (I) die Ketostruktur zu, während die freien Säuren die erwähnten beiden Enole (II und III) repräsentieren. Die drei Formen stehen nun zueinander in einer ganz ähnlichen Beziehung wie die drei gärenden Sechskohlenstoffzucker: d-Fructose (IV), d-Glucose (V) und d-Mannose (VI).



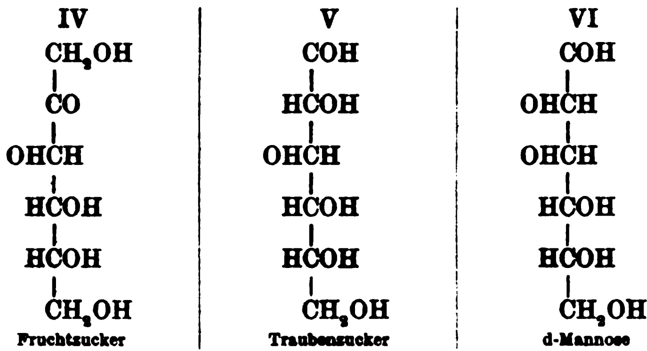
Oxalessigsäure



Oxymaleinsäure



Oxyfumarsäure



Es ist bemerkenswert, daß bei der zuckerfreien Gärung sich entsprechende konfigurative Beziehungen ergeben haben.

Ob freilich alle drei Formen der Oxalessigsäure an sich vergoren werden, oder ob die Hefe zuvor die Umlagerung in eine bestimmte Form zuwege bringt, läßt sich ebensowenig entscheiden wie für die drei gärenden Hexosen der Traubenzuckergruppe.

Das Verhalten der Amphibien in verschieden konzentrierten Lösungen.

Von

A. Durig.

(Aus dem Physiologischen Institut der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien.)

(Eingegangen am 17. März 1913.)

In der unter diesem Titel erschienenen Abhandlung[1]) haben Backman und Sundberg unter anderem eine Reihe von Beobachtungen beschrieben, die eine erfreuliche Bestätigung meiner vor 12 Jahren veröffentlichten Studien „über Wassergehalt und Organfunktion" bilden[2]).

Die Verfasser haben auf manche Teile dieser Publikation ausführlich Rücksicht genommen und befinden sich in bezug auf die beobachteten Erscheinungen in guter Übereinstimmung mit dem damals Beschriebenen. In einem Punkte allerdings, der für die Deutung der Befunde nicht ohne wesentlichen Belang ist, gehen unsere Anschauungen auseinander, weshalb ich auf die Ausführungen der beiden Autoren im Vergleich zu meinen alten Beobachtungen in einigen Zeilen zurückkommen möchte.

Die Verfasser glauben nämlich mancherlei Gewichtszuwachs bei den Fröschen, der sich ausschließlich auf Grund der Annahme, daß die „Einstellung" der Frösche in Salzlösungen durch osmotische Kräfte erfolge, etwas schwer erklären läßt, darauf zurückzuführen, daß die Frösche Flüssigkeit durch das Maul aufgenommen oder durch die Kloake resorbiert haben müßten.

---

[1]) Backman und Sundberg, diese Zeitschr. **48**, 396, 1913.

[2]) Pflügers Arch. **85**, 401, 1901.

So schreiben die Verfasser z. B. auf Seite 428[1]): „meint Durig, daß es nicht möglich sei, die geschilderten Versuchsresultate als osmotische Prozesse anzusprechen, sondern daß man, um sie erklären zu können, genötigt wäre, das Vorhandensein einer besonderen Wirksamkeit der Hautzellen anzunehmen .... Durigs Versuche sind indessen leichter zu deuten, wenn sie mit unseren oben geschilderten verglichen werden. Die Wasseraufnahme kommt dabei zum nicht unbedeutenden Teil durch das Maul und das Darmsystem zustande; denn wenigstens letzteres zeigte sich bei der Obduktion mit Flüssigkeit gefüllt. Im Zusammenhang damit scheint eine Absorption von salzhaltigem Wasser seitens des Darmkanales vor sich zu gehen .... Daß man außerdem an eine Einwirkung von NaCl auf die Haut selber und eine damit in Zusammenhang stehende vermehrte Wasseraufnahme denken kann, haben wir schon hervorgehoben."

Letztere Möglichkeit nun, die ja die Annahme einer funktionellen Beeinflussung der Hautepithelzellen voraussetzt, habe ich bereits in meiner Publikation besprochen und erwähnt, daß es ganz gut möglich sei, daran zu denken, daß verdünnte Kochsalzlösungen als ein schwacher Reiz (andersartig als das Brunnenwasser) auf das Hautepithel des Frosches wirken und dabei zu einer vermehrten Aufnahme von Flüssigkeit Anlaß geben. Erstere Annahme jedoch, die Möglichkeit einer Flüssigkeitsaufnahme durch das Maul oder die Kloake, wurde von mir in meinen Versuchen durch eigens zu dem Zwecke angestellte Beobachtungen ausdrücklich ausgeschlossen, so daß es wohl nicht recht angängig ist, diese Hilfshypothese zur Erklärung der Gewichtszunahmen bei meinen Versuchstieren heranzuziehen.

Ich möchte diesbezüglich auf den Wortlaut in meiner Publikation verweisen, in der es heißt:

„Eine Arbeit von Ružička, die später noch eingehend Berücksichtigung finden soll, erwähnt übrigens, daß dieser Autor auch bei durstenden Fröschen nie eine solche Flüssigkeitsaufnahme per os nachweisen konnte. Die gewiß zahlreichen Versuche der vorliegenden Arbeit lieferten ebenfalls keine Bestätigung der Heubelschen Beobachtung, da bei keinem Frosch, ob er nun 30% seines Körpergewichtes an Wasser verloren hatte und in destilliertes oder Brunnenwasser gesetzt worden war, oder ob der Wasserverlust auch nur ein unbeträchtlicher gewesen war, trotz unausgesetzter Beobachtung während der ersten Stunde des Aufenthaltes in der Flüssigkeit Wasseraufnahme durch die Schnauze gesehen wurde. Es sprechen für die Richtigkeit dieser Beobachtung übri-

[1]) In ähnlicher Weise auch auf S. 432.

gens auch eine Reihe von Versuchen, die ich eigens zu dem Zwecke anstellte. Es wurde dabei nämlich durch Einschieben eines dicken Glasstabes in den Oesophagus die Schleimhaut desselben vorgezogen, mit Schiebern erfaßt und an der so entstandenen Intususception nun durch Anlegung einer verläßlichen Ligatur ein Abschluß gegen den Magen erzielt. Alle durstenden Tiere erholten sich, in Wasser gesetzt, in ganz derselben Zeit und nahmen ebenso rasch an Körpergewicht zu wie jene, die ohne weiteres in Wasser gesetzt worden waren." Ferner wurden Versuche durchgeführt, in denen den Fröschen über einem Gummipfropfen die Kloake vorsichtig, ohne Verletzungen zu erzeugen, unterbunden wurde, anderen Fröschen wurde gleichzeitig eine Art Halskrause angebracht, die diese verhinderte, mit der Schnauze zum Bad, in dem sie saßen, zu gelangen, und doch war in allen diesen Fällen die Gewichtszunahme genau dieselbe wie bei jenen Tieren, die nicht verhindert worden waren, Wasser durch das Maul oder den After aufzunehmen.

Es scheint mir dadurch zuverlässig der Beweis erbracht, daß in meinen Versuchen keine Aufnahme von Flüssigkeit durch das Maul oder die Kloake in Betracht gekommen ist, die sich in der von Backman und Sundberg beschriebenen Weise hätte äußern können. Wohl beobachtete und beschrieb ich auch ausdrücklich ödematöse Schwellungen bei den Tieren, sowie Flüssigkeitsansammlungen in der Bauchhöhle und im Darmkanal, diese sind aber jedenfalls auf ganz andere Weise als durch Verschlucken zustande gekommen. Es liegt mir fern, zu bestreiten, daß die Frösche der beiden genannten Autoren Wasser durch das Maul aufgenommen haben und dadurch Gewichtsänderungen herbeiführten, zum positiven Beweise dafür wäre aber doch erst der Nachweis des tatsächlichen Schluckens notwendig, insolange möchte ich nach meinen und Ružičkas Erfahrungen das Trinken der Frösche ganz allgemein doch für recht unwahrscheinlich halten, denn das Vorhandensein der Flüssigkeitsansammlungen scheint mir noch kein zwingender Beweis zu sein; um so mehr als sich dies auch bei unseren Fröschen, bei denen wir ein Schlucken ausschließen konnten, zeigte. Wie leicht man durch das Maulaufsperren der Frösche zu der Vermutung, daß die Tiere Wasser trinken, kommen kann, habe ich an anderem Orte bereits erwähnt[1]).

[1]) Auch die Gleichartigkeit im Verhalten der Tiere und insbesondere der Ergebnisse der Analysen sprechen schon an und für sich gegen die Annahme des Schluckens.

Eine Erklärung für die Flüssigkeitsansammlung im Darmtrakt bei Fröschen, die in Salzlösungen sitzen, kann ganz wohl auf verschiedenerlei anderem Wege gegeben werden.

So ist es möglich oder sogar wahrscheinlich, daß die Darmepithelzellen der Frösche, und zwar ganz besonders jene der hypertonisch gemachten (durstenden) Frösche, ebenso Salze in das Darmlumen secernieren wie die Darmepithelien des Menschen. Ein Auftreten vermehrter Salze im Darmkanal kann dann sehr wohl bei Flüssigkeitszufuhr im hypotonischen Bade zum Einströmen von Flüssigkeit in den Darm führen, wofür wieder eine Reihe von Analogien zu Gebote stehen[1]). Ferner möchte ich auf das Ergebnis meiner Versuche verweisen, in denen die Salzmengen quantitativ verfolgt wurden, die in den Tierkörper eintraten oder diesen verließen, sobald der Frosch in Wasser gesetzt wurde. Es zeigte sich, daß Salze die Froschhaut viel rascher in der Richtung von außen nach innen als von innen nach außen passieren, und daß Wasser viel rascher passiert als Salz, so daß dann, wenn der Frosch gegen das Bad hypertonisch war, das Wasser rascher in das Tier hineinströmte, als die Salze aus dem Frosch herauswanderten. Die Folge davon war Flüssigkeitsanhäufung im Tier, die um so größer und auffallender war, je größer die Moleküle waren, die die Haut von innen nach außen passieren sollten.

Wie sich aus den Untersuchungen Backmans und seiner Mitarbeiter ergibt, hat sich die Eigenschaft der Frösche (es sei nur von diesen gesprochen) erst während der Entwicklung ausgebildet, offenkundig um den Anforderungen, die die Lebensbedingungen an das Tier stellen, zu genügen. Auf diese Notwendigkeit habe ich ebenfalls bereits in meinen Ausführungen im Jahre 1901 hingewiesen, aber betont, daß es sich hierbei keinesfalls um vitalistisch zu deutende Kräfte handle, wohl aber um vitale Erscheinungen, die an chemische Eigenschaften des Protoplasmas gebunden sind. In diesem Sinne scheinen mir auch die Resultate Backmans und Sundbergs zu sprechen, denn gerade die Tatsache der Anpassung eines Organes an die Anforderungen, die an dieses gestellt werden, ist wohl ein

[1]) Es sei z. B. nun auf das Verhalten von Eisensalzen verwiesen, die vom Darm resorbiert und zum Teil wieder in den Darm ausgeschieden werden, ähnliches gilt von den Calciumsalzen u. a.

Beweis dafür, daß die Eigenschaften der Zellen gegenüber den Lösungen, die in diese einzudringen bestrebt sind, auf einer Regelung des Stoffwechsels dieser Zellen nach einer ganz bestimmten, für die betreffenden Zellen typischen Richtung hin beruht. Daß dabei der chemische Bau des ganzen Systems so geordnet wird, daß eine gewisse Regelungsbreite in jenen Zellen erzielt wird, die der Wirkung verschiedener Konzentrationen von Lösungen ausgesetzt ist, scheint eine selbstverständliche Forderung, die in jenen Zellen, die den Schutz der erstgenannten genießen, nicht erforderlich ist und in diesen auch nicht zur Ausbildung kommen wird.

Es scheint eine kurze Betrachtung über die Höhe der Druckdifferenzen, die bei der Wirkung allotonischer Lösungen auf die Froschhaut in Betracht kommen, selbst wenn deren Zellen den ganzen Druck in der Tat auszuhalten hätten, nicht ganz überflüssig. Auch wäre die Frage zu erörtern, ob der Frosch energetisch für die Bestreitung jener Arbeit aufkommen muß, die er bei verschiedener Konzentration seines Protoplasmas gegenüber der Lösung, in der er sitzt, zu leisten hat, was durch den Vergleich zweier Stoffwechselversuche (Respirationsversuche) — an einem in destilliertem Wasser und an einem in physiologischer Kochsalzlösung gehaltenen Frosche — einfach zu entscheiden wäre[1]). Vom Standpunkte des Biologen aus ist es allerdings recht unwahrscheinlich, daß ein in seinem gewöhnlichen Milieu lebender Frosch Energie aufwenden sollte, die er in Kochsalzlösung nicht aufwenden muß; immerhin sind aber Verhältnisse denkbar wie beim Menschen und den Warmblütern, die ja meist auf höhere Temperatur eingestellt sind als die Umgebung, unter Energieverbrauch Wärme zum Ausgleich produzieren müssen; allerdings wird ihnen gegenüber den gewöhnlichen Lebensbedingungen an Energie-(Wärme-)produktion auch nichts erspart, wenn sie in körperwarmem Bade sitzen, da jene Wärmemenge, die bei gewöhnlich gegebenem Temperaturgefäll durch Ableitung und Abstrahlung entzogen wird, ohnedies als überflüssige Wärme aus dem für die Erhaltung und Abnützung im Körper entstehenden Stoffwechsel resultiert, ohne daß eigene

[1]) Auch die Gewichtsabnahme des in destilliertem Wasser oder Brunnenwasser sitzenden hungernden Frosches müßte schneller erfolgen (Abderhaldens Wage!).

„Heizkalorien“ unter diesen gewöhnlichen Bedingungen über den Erhaltungsumsatz ausgegeben werden müssen.

Daß die Zellen des in Brunnenwasser sitzenden Frosches die erforderliche Arbeit entgegen dem Druckgefälle leisten können, ist nicht leicht zu bezweifeln nach dem, was wir von der Arbeitsleistung verschiedener Zellen (Nieren-, Blasenepithel usw.) wissen, wenn es sich auch hierbei meist um einen Transport von Wasser oder von Salzen entgegen dem Druckgefälle handelt, während der Frosch in Brunnenwasser den Transport von Salzen aus den Zellen oder jenen von Wasser in die Zellen verhindern soll.

Sieht man das histologische Bild der Froschhaut an, so gelangt man zum Schlusse, daß man auch dann, wenn man die volle Druckdifferenz zwischen Wasser und Konzentration der „Froschlösung“ auf die Zellwände der Froschhaut wirksam sein läßt, auf gar keine so großen Schwierigkeiten für die Erklärung stößt, insbesondere wenn man, sit venia verbo „eine stufenweise Expansion“ — ein stufenweises Abgleichen des Druckes von außen nach innen annimmt, wobei ausschließlich die physikalischen Kräfte der Zellen die Arbeit gegen die Teildrucke zu leisten hätten, ohne daß die Zellen hierbei unter Aufwand von chemischer Energie „nutzlose“ Arbeit leisten müßten. Mißt man nämlich die Flächen der einzelnen Zellen einer Froschepidermis, die in vier oder mehr Lagen angeordnet sind, so bekommt man leicht eine Vorstellung über die Drucke, die bei der einzelnen Zelle in Betracht kommen und bestrebt sind, einen Ausgleich in der Konzentrationsdifferenz herbeizuführen, falls der normale Frosch im Wasser sitzt. Man wird die Druckdifferenz zwischen der Salzlösung im Frosch und einem Sumpfwasser, in dem ein Frosch sitzt, der Einfachheit halber mit rund 4 Atmosphären annehmen dürfen[1]), denn ich möchte der

[1]) Nimmt man die Froschlösung als 0,12 n bei 94% Dissoziation an, so entspricht dieser Lösung eine Gefrierpunktserniedrigung von 0,42°. Da einem Gramm Molekül im Liter 22,3 Atmosphären osmotischer Druck entsprechen, ergeben sich pro 1° Temperaturerniedrigung 12 Atmosphären Druckdifferenz und somit auf den Frosch gegenüber destilliertem Wasser 5,04 Atmosphären, eine Differenz, die allmählich bis auf 2 Atmosphären ausgeglichen wird, indem der Frosch Salze durch die Haut abgibt. Derartig salzarm gemachte Frösche geben weiterhin ebensowenig Salze ab als die Niere kochsalzarm gemachter Frösche NaCl abgibt.

Annahme, daß der osmotische Druck der Froschlösung aus dem Salzgehalt des Frosches wegen des Vorhandenseins beträchtlicher Mengen von Wasser als Quellungswasser nicht glattweg berechnet werden könne, nicht beipflichten, da wir durch die Untersuchungen Jensens[1]) wissen, daß sich im Muskel, in dem wir eigentlich die größten Mengen fester gebundenen Wassers erwarten sollten, nur ein ganz verschwindender Bruchteil des Gesamtwassers (3,9 $^0/_0$) in festerer Bindung findet. Nehmen wir nun an, was allerdings vollkommen willkürlich ist, daß sich die Druckdifferenz zwischen Wasser und Gewebe im Frosch durch die Haut gleichmäßig abgleicht, so würde auf jede einzelne der vier Zellagen je eine Druckdifferenz von 1 Atmosphäre, also 1000 g pro Quadratzentimeter, entfallen. Die obersten Schichten des Oberhautepithels hatten in dem vorliegenden Froschhautpräparat durchschnittlich 32 μ : 25 μ messende Zellen, also die Zelle eine Fläche von rund 800 μ^2. Demnach würde die auf die einzelne Zelle wirkende Kraft 8 mg betragen, was gar keine so verblüffende Anforderung an die derben Wände der Zellen dieser Schicht vorstellt; zudem könnte durch Änderung der Volumsenergie der Zelle[2]) auf Grund einer Änderung der molekularen Konzentration der Zelle und als Ausdruck eines spezifischen Stoffwechsels dieser Zellen[3]), oder durch einen Eintritt geringer Wassermengen in die oberflächlichste Zellage, deren Konzentration erniedrigt werden, so daß die erste Druckstufe durch diese Zellage rein passiv überwunden wird. Auf die zweite Zellschicht mit ihren zarteren Zellen würden nach den Messungen am Präparat bei 300 μ^2 Fläche nur noch 3 mg pro Zelle entfallen, während die zarten Palisadenzellen der innersten Lage gar nur gegen 0,64 mg Druck aufzukommen hätten.

Der Unterschied, der in dem prinzipiell verschiedenen Verhalten der lebenden und toten Froschhautzelle gelegen ist, scheint sehr für die Annahme zu sprechen, daß es in der Froschhaut nur bei bestehendem normalen Stoffwechsel der lebenden Zellen (Regelungsstoffwechsel von v. Wendt?) mög-

[1]) Zeitschr. f. allgem. Physiol. 11, 23.

[2]) Siehe Jensen, Arch. f. d. ges. Physiol. 87, 381.

[3]) Man denke z. B. an die H_2SO_4 erzeugenden Zellen von Dolium galea.

ist, dem unbeschränkten zur Quellung des tiefer liegenden Gewebes führenden Wasserdurchtritt durch die Haut Halt zu gebieten, da ja die Haut im lebenden wie im toten Zustand für Wasser und Salze nach beiden Richtungen vollkommen durchgängig ist. Jedenfalls scheint auch das „lebende Ionenproteid", das sich seine Salze im lebenden Frosch durch destilliertes Wasser nur bis zu einem gewissen Grade entziehen läßt, chemisch anders wirksam zu sein als das tote, das die Salze nicht mehr in dem Umfange festhält; und dennoch läßt es im lebenden Tiere bis zu einem gewissen Grade auch ein Auswechseln der Salze zu, wie ich schon seinerzeit zeigen konnte. Gegenüber hypertonischen Lösungen ist übrigens der Frosch, wie die Versuche zeigten, viel weniger geschützt, obwohl man glauben sollte, daß er durch eine Verschiebung zwischen Quellungs- und Lösungswasser in den Zellen der Druckdifferenz durch Erhöhung der Konzentration der peripheren Schichten des Hautepithels leichter begegnen könnte.

Neue Gesichtspunkte, die zu einer Klärung der Fragen beitragen dürften, ergeben sich übrigens aus den Untersuchungen von Jacques Loeb über antagonistische Elektrolytwirkungen[1]), die den Wunsch nahelegen, die älteren Untersuchungen von diesem Gesichtspunkte aus neuerlich in Angriff zu nehmen.

[1]) Diese Zeitschr. 47, 127.

Über die kohlenhydratsparende Wirkung des Alkohols.

Von

O. Tögel, E. Brezina,
A. Durig.

(Aus dem Physiologischen Institut der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien.)

(Eingegangen am 17. März 1913.)

Mit 10 Figuren im Text.

Über die Tatsache, daß der Alkohol im Körper verbrannt wird und daß die hierbei frei werdende Energie entweder als Wärme nach außen abgegeben wird oder dem Körper in irgend einer Form nutzbringend zugute kommt, kann natürlich ein Zweifel nicht bestehen.

Von Nicht-Fachphysiologen wird allerdings derzeit vielfach noch behauptet, daß die Alkoholcalorien im Körper überhaupt nicht nutzbringend verbrennen. Nach der Überlegung solcher Autoren ist Alkohol nämlich in jeder Menge ein Gift. Da aber Gifte nie Zellbestandteil einer lebenden Zelle werden könnten, die Zellen aber nur solche Stoffe im Stoffwechsel verwerten sollen, die einmal an ihre lebenden Moleküle gekettet waren, wäre es nach dieser Anschauung selbstverständlich, daß die aus der Alkoholverbrennung entstehenden Calorien nur als überschüssige Wärme auftreten und als solche vom Körper abgegeben werden müssen, ohne daß dieser für seinen Haushalt irgendwelchen Vorteil aus der Alkoholverbrennung ziehen würde. Dem entgegen stehen wohl sämtliche Stoffwechselphysiologen heute auf dem Standpunkte, daß der Alkohol nach seinem energetischen Wert in die Stoffwechselbilanz einzubeziehen ist.

Schon die Tatsache, daß im Tierkörper solcher Tiere, die niemals Alkohol erhalten haben, Äthylalkohol im Gewebe vor-

kommt, wie dies Landsberg[1]) und Reach[2]) sowie Maignon[3]) nachgewiesen haben, spricht dafür, daß Alkohol ein normales, unter physiologischen Verhältnissen im Zellstoffwechsel auftretendes Produkt ist. Dies hat natürlich mit der Tatsache, daß größere Mengen von Alkohol ausgesprochene Giftwirkungen herbeiführen, ebensowenig etwas zu tun, wie die Tatsache, daß z. B. geringe Kochsalz-, Arsenik- oder Phosphormengen im Körper günstige Wirkungen entfalten, gegen die Giftnatur dieser Stoffe spricht, sobald größere Mengen gegeben werden. Andererseits wird man Fleisch, das, in übermäßigen Dosen dauernd zugeführt, gleichfalls zu schweren Schädigungen führen kann oder z. B. den „Beefsteakrausch“ auslöst, deswegen nicht als Gift ansprechen, oder ihm die Bezeichnung Nahrungsmittel aberkennen.

Auch im Durchströmungsversuch am überlebenden Organ wurde der Nachweis erbracht, daß Alkohol sich unter der Hand des Experimentators im lebenden Gewebe als Zwischenprodukt bildet. So wurde z. B. in den Versuchen von Embden und Baldes[4]) gezeigt, daß frischer Leberbrei ebenso wie durchblutete Lebern imstande sind, rasch und kräftig Acetaldehyd in Äthylalkohol umzuwandeln. Auch dann, wenn man bei Versuchen am Herzen der durchspülenden Ringer-Lösung Alkohol zusetzt, wird dieser Alkohol verbraucht und für die Herzarbeit verwendet[5]).

Sehr zahlreich sind die Stoffwechsel- und Respirationsversuche, durch die der Nachweis für die energetische Verwertung des Alkohols im Stoffhaushalt angetreten wurde. Eine vorzügliche Zusammenstellung und Besprechung der einschlägigen Literatur hat Rosemann im Handbuch der Biochemie[6]) von Oppenheimer gegeben. Seither haben Völtz und seine Mitarbeiter neue wertvolle Beweise für die energiespendende Wirkung des Alkohols durch Stoffwechselversuche am Menschen und an Tieren beigebracht.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **41**, 505.

[2]) Diese Zeitschr. **3**, 326.

[3]) Congr. intern. d'Hygiène alim. Brüssel 1910.

[4]) Diese Zeitschr. **44**, 157.

[5]) Philip Hamil, Journ. of Physiol. **39**, 476.

[6]) **4**, 413; siehe auch Abderhalden, Bibliographie über den Alkohol, Urban-Schwarzenberg 1904.

Völtz und Baudrexel haben nachgewiesen, wie groß die Verluste an unausgenützten Alkoholmengen durch die Abgabe von unverbranntem Alkohol durch Harn und Lunge sind, und zwar sowohl in Körperruhe[1]) wie bei Körperarbeit[2]), und ferner gezeigt, daß 90 bis 97 % des zugeführten Alkohols beim Menschen energetisch verwertet werden. Auch in die Harnblase eingeführter Alkohol gelangt zur Resorption und wird zur Bestreitung des Energiebedarfes herangezogen. Beim Hunde wurde ein Drittel des ganzen Energiebedarfes innerhalb der ersten 2 Stunden nach der Alkoholzufuhr durch den von der Blase resorbierten Alkohol bestritten[3]). Auch die Versuche über den Nährwert des Bieres[4]) von denselben Autoren haben zum unbestrittenen Resultat geführt, daß Alkoholcalorien energetisch verwertbar in den Stoffwechsel eintreten. Diese Ergebnisse stellen wichtige Erweiterungen der grundlegenden von Atwater und Benedict angestellten Untersuchungen über den Nährwert des Alkohols vor[5]).

Wenn nach allen den vielen Untersuchungen ein Zweifel darüber nicht bestehen kann, daß die Alkoholcalorien im Körper verwertet werden, so liegt natürlich die Frage nahe, ob die Calorien, die der Körper aus der Alkoholverbrennung bezieht, quantitativ im Körper verwertet werden, und zwar sowohl bei Ruhe wie bei Arbeit mit demselben Wirkungsgrade wie die Calorien anderer Nahrungsmittel, denn es könnte ja trotz der Verwertung der Alkoholcalorien im Körper immerhin der Fall sein, daß diese nur einseitig für die Lieferung von Wärme herangezogen werden und selbst hierbei unter geringerer Ökonomie im Körper umgesetzt werden. Ferner ist die Frage zu beantworten, welche Stoffe durch den Alkohol vor der Verbrennung geschützt werden und ob der Alkohol jeden Nahrungsstoff nach seinem Energiewert isodynam zu ersetzen vermöge. Daß hierbei von der spezifischen Bedeutung der Eiweißkörper im Stoffwechsel abgesehen werden muß wegen ihres Stickstoffgehaltes, der natürlich durch einen stickstofffreien Nährstoff, wie der Alkohol ist, nicht ersetzt werden kann, versteht sich von selbst.

Durch zahlreiche Versuche ist es höchst wahrscheinlich gemacht, daß der Alkohol unter gewissen Einschränkungen mit

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 138, 70.
[2]) Ebenda 142, 47.
[3]) Ebenda 145, 186.
[4]) Ebenda 134, 133.
[5]) Memoirs of the National Acad. of Sciences 8, Sixth Memoir Washington 1902.

seinem vollen Brennwerte an Stelle jedes andereren Nahrungsmittels substituiert werden kann, doch muß man immerhin zugeben, daß der volle einwandfreie Beweis hierfür kaum erbracht ist, wenn auch die Ergebnisse der Stoffwechselversuche alle eindeutig im selben Sinne sprechen. Gerade die vorzüglichen Versuche von Atwater und Benedict, die mit glänzender Technik und unter peinlichster Sorgfalt durchgeführt wurden, haben zu einem Resultat geführt, über das sich die beiden Autoren in nicht hoch genug einzuschätzender strenger Selbstkritik vorsichtig ausdrücken, und zwar insbesondere in bezug auf die Verwertung der Energie des Alkohols für die Leistung körperlicher Arbeit.

Daß Alkohol aus der Eiweißverbrennung zu liefernde Calorien zu ersetzen vermag, kann heute wohl als unzweifelhaft feststehend angenommen werden. Am Menschen wenigstens ist diese Annahme unschwer durch Experimente zu stützen, denn es hat sich in allen diesbezüglichen Versuchen gezeigt, daß nach einer Periode anfänglich gesteigerten Eiweißzerfalles eine unleugbare Ersparnis an Eiweiß herbeigeführt wird. Allerdings wird bei der Entscheidung der Frage, ob dieses Ersparnis an Eiweiß direkt durch Ersatz durch Alkoholcalorien oder nur indirekt bedingt sei, daran zu denken sein, daß der Alkohol Kohlenhydrat oder Fettcalorien ersetzt habe und daß die Ersparnis an letzteren erst eine Ersparnis an Eiweiß zur Folge gehabt habe, eine Frage, die wohl nur durch Alkoholdarreichung neben ausschließlicher Eiweißfütterung zu entscheiden wäre.

Ähnlich liegen die Verhältnisse in bezug auf die fettsparende Wirkung des Alkohols. Auch Fett gegenüber ist die Sparwirkung des Alkohols sicher erwiesen, denn es kommt dann, wenn Alkohol einer an und für sich zureichenden Kost zugefügt wird, zum Fettansatz, und es wird Fettabbau verhindert, wenn zu einer calorisch unzulänglichen Kost Alkohol zugelegt wird. Doch auch hier wissen wir nicht, ob die sparende Wirkung des Alkohols gegenüber dem Fett direkt oder nur indirekt in Frage kommt; könnte doch der Alkohol „Heizcalorien“ geliefert haben, die zur Ersparnis von Kohlenhydratcalorien führten, so daß Kohlenhydrat für die Mast übrig blieb und Fett ersetzte. Da die respiratorischen Quotienten bei Fett- und Alkoholverbrennung einander außerordentlich

naheliegen, stößt die Entscheidung der Frage, wie sich die Dinge verhalten, auf nicht unbeträchtliche Schwierigkeiten.

Es schien daher nicht unwichtig, durch Versuche festzustellen, ob Alkohol speziell Kohlenhydrat als solches im Stoffwechselversuch energetisch quantitativ zu ersetzen vermag, um so mehr, als unsere Kentnisse über eine kohlenhydratsparende Wirkung des Alkohols bisher recht hypothetische waren, so daß Rosemann[1]) sogar sagt: „von einer kohlenhydratsparenden Wirkung des Alkohols sei nichts bekannt".

In der Tat liegen nur Versuche von Wolfers[2]) am Kaninchen vor, die in der Weise ausgeführt wurden, daß Kaninchen entweder intravenös oder per os Alkohol bzw. Traubenzucker gegeben wurde. Die Resultate der Versuche sind allerdings etwas wenig einheitlich und für die Entscheidung der Frage schon darum nicht sicher zu verwerten, da die Wirkung des Alkohols im Tierversuch, wie dies speziell aus den Beobachtungen über die eiweißsparende Wirkung des Alkohols beim Tiere hervorgeht, andere sind als beim Menschen.

Es zeigte sich in den Versuchen von Wolfers, daß im Gefolge von Alkoholzufuhr wiederholt niedrige respiratorische Quotienten auftraten, die auf eine Verdrängung der Kohlenhydratverbrennung durch Alkoholverbrennung hindeuten, die aber zum Teil, wie aus den Protokollen ersichtlich ist, durch Unruhe der Tiere bei der Manipulation der Injektion bedingt sein dürften, wie man ja häufig beobachtet, daß kurz vorhergegangene Unruhe zu einem beträchtlichen Sinken der respiratorischen Quotienten Anlaß gibt. Nicht selten sieht man Quotienten zwischen 0,6 und 0,7, die ausschließlich durch vorangegangene Überventilation erklärt werden können. Dessenungeachtet war sicher in den Versuchen von Wolfers in vielen Fällen und ohne Zweifel die Verbrennung von Alkohol die Ursache der Erniedrigung der Quotienten. Allerdings schloß daraus Wolfers im Zusammenhang mit der beobachteten Steigerung des Sauerstoffverbrauches, daß der Alkohol zu einer Steigerung der Oxydationsprozesse geführt habe, was im Sinne einer wertlosen Verausgabung von Alkoholcalorien gedeutet werden müßte.

Sieht man die Versuche von Wolfers genauer durch, so zeigen diese aber doch ganz deutlich, daß auch er in vielen Versuchen ein Sinken des respiratorischen Quotienten ohne gleichzeitige Steigerung des Sauerstoffverbrauches gefunden hat, was allerdings nicht in seine Überlegung paßt und zugunsten einer energetisch zweckmäßigen Verwertung der Alkoholcalorien spricht. Diese wesentlichen Unterschiede in den

---

[1]) l. c., S. 433.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. 32, 224.

Ergebnissen der von Wolfers angestellten Versuche sind wohl auf das Verhalten der Versuchstiere zurückzuführen.

Es erübrigt noch auf Beobachtungen hinzuweisen, die wenigstens indirekt zu dem Wahrscheinlichkeitsschluß geführt haben, daß Alkohol kohlenhydratsparend wirken könne. Die betreffenden Versuche wurden von einem von uns[1]) anläßlich von Studien über die Wirkung von Alkohol bei der Muskelarbeit durchgeführt.

Die Versuchsperson stieg während eines Sommers im Respirationsversuch wiederholt auf den 2400 m hohen Bilkengrat und nahm dann, als die Analysen zeigten, daß maximales Training erzielt worden sei, dieselben Aufstiege wieder vor, jedoch mit dem Unterschied, daß nunmehr vor Versuchsbeginn Alkohol genossen wurde. Es ergab sich hierbei, daß die respiratorischen Quotienten, die im Normalversuche während des Aufstieges in dem Maße als Kohlenhydrat verbraucht wurden, absanken, dann, wenn auch Alkohol zugegeben worden war, entweder konstant blieben oder sogar anstiegen. Da aber ein Steigen der R.Q. bedeutet, daß mehr Kohlenhydrat zur Verbrennung gelangt ist, ergab sich aus den Versuchen die Folgerung, daß dem Körper nach Alkoholzufuhr zu einer Zeit noch Kohlenhydrat in reichlicher Menge zur Verfügung stand, zu der dieses im Normalversuch schon stark verbraucht war. Das Resultat deutete daher daraufhin, daß also im Alkoholversuch Kohlenhydrat auf Kosten von Alkohol gespart worden sei.

Aus der Berechnung des Umsatzes während des ganzen Versuches war ferner der Wahrscheinlichkeitsschluß zu ziehen, daß nicht nur Alkohol während des ganzen Versuches verbrannt worden ist, sondern daß er auch nutzbringend, unter Verwertung seiner Energie verbrannte, ja, daß vielleicht auch ein Teil der aus der Alkoholverbrennung gewonnenen Energie bei der Leistung der Muskelarbeit verwendet wurde.

Die Schlüsse waren indirekt und wurden daher auch mit großer Reserve gezogen, wohl bewußt der mehr oder minder künstlich gezwungenen Einwände, die gegen die Ableitung einer energetischen Verwertung des Alkohols speziell bei der Muskelarbeit erhoben werden könnten. Natürlich war es bei dem gegebenen Versuchsplane ganz ausgeschlossen, den Wirkungsgrad, unter dem die Alkoholcalorien in den Stoffwechsel eintraten, zu bestimmen.

Eine Fortführung dieser Beobachtungen in weiteren Versuchen war für spätere Zeit in Aussicht genommen. Diese folgenden Experimente sollten in erster Linie zeigen, wie die Alkoholverbrennung in den ersten Minuten nach der Darreichung des Alkohols verläuft und zweitens einwandfrei festzustellen

[1]) Durig, Beiträge zur Physiologie des Menschen im Hochgebirge. III. Arch. f. d. ges. Physiol. 113, 341.

gestatten, daß Alkohol an Stelle von Kohlenhydrat im Tierkörper verbrennt. Ferner sollte ermittelt werden, in welchem Umfange Alkohol an Stelle von Kohlenhydrat zur Verbrennung herangezogen wird, und entschieden werden, ob Alkohol tatsächlich als Energiequelle bei der Leistung von Muskelarbeit in Frage kommt.

Da man immer dann, wenn man im Respirationsversuch den respiratorischen Quotienten bestimmt zu berücksichtigen hat, wieviel Eiweiß, Fett, Kohlenhydrat und Alkohol verbrannt wird, und nur bezüglich der Eiweißrechnung einen Anhaltspunkt besitzt in der Menge des im Harn ausgeschiedenen Stickstoffes, so stößt die Aufteilung der Menge der produzierten Kohlensäure und des verbrauchten Sauerstoffes auf die Komponenten Fett und Kohlenhydrat und Alkohol auf Schwierigkeiten, indem den beiden bekannten Größen, dem O_2-Verbrauch und der CO_2-Produktion bzw. dem respiratorischen Quotienten drei unbekannte, entsprechend dem Umfange der Verbrennungsprozesse, für Fett, Kohlenhydrat und Alkohol gegenübertreten. Diese Schwierigkeit trachteten wir dadurch zu umgehen, daß wir die Fettverbrennung auszuschalten versuchten, um den Verbrauch von Sauerstoff und die Produktion von Kohlensäure wenigstens vorübergehend nur mehr auf Alkohol und Kohlenhydratverbrennung beziehen zu können.

Wir richteten unsere Fragestellung derart ein, daß wir zu ermitteln trachteten[1]), in welchem Ausmaße der Alkohol selbst bei überreichlicher Kohlenhydratzufuhr eine kohlenhydratsparende Wirkung bei Ruhe und Arbeit zu entfalten vermöge und wie sich zeitlich die Verbrennung von Kohlenhydrat und Alkohol in diesem Falle nebeneinander abspiele.

Unser Plan ging daher dahin, eine Versuchsperson mit großen Mengen von Kohlenhydrat zu überschwemmen und außerdem noch auf einmal eine große Menge Traubenzucker zu geben, so daß vorauszusetzen war, daß der Körper das Bestreben haben werde, sich womöglich des Überschusses von

[1]) Die Arbeitsteilung bei dieser Untersuchung war folgende: Die Beobachtungen wurden sämtlich an B. durch T. ausgeführt, der auch die Analysen vornahm und die Grundwerte berechnete. Die Verarbeitung der zahlenmäßigen Resultate zur Abhandlung erfolgte durch D., der auch die Fragestellung und den Gang der Versuche bestimmt hatte.

Kohlenhydrat zu entledigen. In diesem Zustande nun sollte der Alkohol zugeführt werden, um sehen zu können, ob trotz der großen Mengen zur Verfügung stehender Kohlenhydrate der Alkohol vorerst angegriffen würde.

Die Versuche sollten zuerst bei vorsätzlicher Körperruhe der Versuchsperson und dann unter analogen Grundbedingungen bei der Leistung meßbarer Arbeit durchgeführt werden.

Da bei der Zufuhr größerer Mengen von Kohlenhydraten der respiratorische Quotient Eins oder nahezu Eins wird, so sollte das Sinken des Quotienten nach Alkoholzufuhr während der Zeit maximaler Kohlenhydratverbrennung ermöglichen, die Menge von Kohlenhydrat und Alkohol zu berechnen, die zur Verbrennung gelangt. Sollte sich dieses Verfahren auch bei den Arbeitsversuchen bewähren, so mußte sich auf Grund der energetischen Verhältnisse der Beweis erbringen lassen, daß Alkohol tatsächlich zur Leistung von Muskelarbeit herangezogen worden ist. Es mußte sich dann auch der Wirkungsgrad, mit dem die Alkoholcalorien bei der Arbeit verbrannt werden, einwandfrei feststellen lassen, ohne hierbei auf indirektem Wege, unter Zugrundelegung teilweise willkürlich gewählter Voraussetzungen, rechnerisch der Alkoholverbrennung folgen zu müssen, wie dies bei den Bilkengratversuchen geschehen war.

Leider war es uns nicht möglich, den zweiten Teil unseres Programms, an dem uns besonders gelegen war, schon jetzt zu Ende zu führen und auch das Verhalten bei Muskelarbeit zu untersuchen. Es zeigte sich nämlich, daß bei der Versuchsperson, nachdem an ihr eine große Reihe von Zuckerversuchen durchgeführt worden war, der Ablauf der Zuckerverbrennung eine vollständige Abänderung erfuhr. So war beispielsweise in einem Versuche, bei dem die Versuchsperson 100 g Dextrose[1]) eingenommen hatte, der respiratorische Quotient nach $1^1/_2$ stün-

[1]) Nach den internationalen Vereinbarungen der Chemiker wäre es richtiger gewesen, im folgenden an Stelle von Dextrose die Ausdrücke: d-Glucose oder Traubenzucker und an Stelle von Lävulose: d-Fructose oder Fruchtzucker zu gebrauchen. Um zahlreiche Korrekturen zu vermeiden, wurden die der verwendeten Handelsware zugelegten alten Ausdrücke belassen, worauf zur Vermeidung von Verwechselungen hingewiesen sei.

digem Liegen nur 0,848 gegen 0,944 im Versuch am 19. I. Es waren die Minutenvolumina der Kohlensäure und des Sauerstoffes erheblich größer als in den früheren Versuchen, nämlich 255,1 ccm CO_2 und 301,0 ccm O_2 gegenüber 228,5 ccm CO_2 und 242,1 ccm O_2 am 19. I. Die Verschiebung im Kohlenhydratstoffwechsel ist also mit größerem Energieverbrauch einhergegangen, der nicht durch die Verbrennung des Zuckers in Form von Kohlenhydrat herbeigeführt worden ist. Es sei übrigens gleich an dieser Stelle ausdrücklich bemerkt, daß die in Erwähnung stehenden Versuche zu wesentlich späterer Zeit durchgeführt wurden als die Alkoholversuche, von denen die vorliegende Mitteilung berichtet. Die erwähnte eigentümliche Erscheinung vermochten wir uns lange nicht zu deuten.

Wenn die betreffenden Versuche gezeigt hatten, daß schließlich trotz gleich großer Zufuhr von Dextrose wie in den Beobachtungen, von denen im späteren die Rede sein wird, der respiratorische Quotient nicht anstieg, also die Verbrennung des Zuckers als solchem nicht mehr in der gleichen Zeit und im gleichen Umfange vor sich ging, so war entweder anzunehmen, daß die Resorption des Zuckers eine Verzögerung erfahren habe, oder daß der Zucker unverbrannt im Harn ausgeschieden worden sei, oder endlich größere Mengen von Zucker in Form von Blutzucker zurückgehalten worden sein müßten.

An eine gesteigerte Retention von Kohlenhydrat in Form von Glykogen konnte nicht wohl gedacht werden, da der Körper ohnehin durch die vorangegangene reichliche Kohlenhydratfütterung mit Glykogen voll besetzt sein mußte. Ebenso ist es auszuschließen, daß eine vermehrte Bildung von Fett aus Kohlenhydrat zustande gekommen sei, denn in diesem Falle hätte der respiratorische Quotient ja steigen, ev. sogar Werte über Eins erreichen müssen, während in der Tat erniedrigte Quotienten auftraten.

Überraschenderweise gab die Blutzuckerbestimmung, für deren Durchführung wir Herrn Dr. Wilenko (der zufällig gerade im Zuge einer anderen Untersuchung Blutzuckeranalysen im Laboratorium ausführte) zu bestem Danke verpflichtet sind, ein negatives Resultat. Es zeigte sich keine Erhöhung des Blutzuckergehaltes über die Norm nach der Zuckerzufuhr in

jenen Proben, die zu der Zeit aus dem Blute entnommen wurden, zu der sonst der respiratorische Quotient immer Eins oder nahezu Eins war, obwohl jetzt der Quotient im gleichzeitig mit der Zuckerzufuhr und Blutentnahme durchgeführten Respirationsversuch, so wie wir dies nach der Gewöhnung immer gesehen hatten, abermals wesentlich niedriger als sonst geblieben war.

Auch im Harn war keine Zuckerausscheidung nachweisbar. Es wäre daher nicht uninteressant, gerade dieser Erscheinung in weiteren Untersuchungen zu folgen; denn für die Annahme einer verzögerten Resorption hat sich aus dem Verlaufe der stundenlang nach der Alkoholzufuhr durchgeführten Respirationsversuche kein Anhaltspunkt ergeben.

Vorläufig wissen wir auf Grund experimenteller eigener Befunde noch nicht, was aus dem Zucker geworden ist und wo er sich befand. Ein Licht auf die Sache scheinen die neuen Feststellungen von Embden und seinen Mitarbeitern zu werfen. Nach den Untersuchungen dieser Autoren ist es naheliegend, auch in unserem Versuch bei glykogenerfüllter Leber an Milchsäurebildung zu denken. Diese würde allerdings selbst ohne Verschiebung des respiratorischen Quotienten einhergehen. Denkt man sich aber die Milchsäure an Alkali gebunden, wozu selbstverständlich die Bedingungen vorhanden sind, so würde durch Oxydation des Lactats an Stelle des Traubenzuckers ein Sinken des respiratorischen Quotienten auftreten nach dem Schema



$$C_3H_5O_3Na + 3\,O_2 = NaHCO_3 + 2\,CO_2 + 2\,H_2O,$$

entsprechend einem respiratorischen Quotienten von 0,67. Die Gewöhnung an die Zuckerzufuhr würde in diesem Falle in einem Umbau des Zuckers in Milchsäure bestehen, der, rasch durchgeführt, den Körper vom überschüssigen Zucker zum Teil wenigstens zu befreien vermöchte, ohne daß dieser sofort verbrannt werden würde. Es würde sich also darum handeln, unter dem Bestehen von Zuckergewöhnung Bestimmungen von Milchsäure und eventuell von Aceton und Ammoniak in Blut und Harn auszuführen, da eine derartige Verschiebung im Stoffwechsel zu einer Acidosis führen müßte, die bei reichem Kohlenhydratbestande zum mindesten nicht sehr wahrscheinlich ist.

Noch ein anderer Weg scheint möglich. Wenn durch die Untersuchungen von Embden und Oppenheimer wahrscheinlich wurde, daß auf dem Umwege über Glycerinaldehyd Traubenzucker im Körper in Rechtsmilchsäure umgebaut wird, und weiter gezeigt wurde, daß die Oxydation der Milchsäure über Brenztraubensäure und Acetaldehyd fortgesetzt wird, ferner durch Embden und Baldes gezeigt wurde, daß aus Acetaldehyd in der Leber durch Reduktion Äthylalkohol entsteht, so ist es gar nicht unmöglich, daran zu denken, daß der Körper unter größerem Energiekonsum, der mit diesem Umbau verbunden ist, im Zuckerversuch nach der Gewöhnung an den Zucker den Alkoholzuckerversuch gerade so, und zwar endogen durchführte, wie wir dies später schildern werden, bei exogener Alkoholzufuhr. Nicht der Zucker wäre bei der gewöhnten Versuchsperson durch möglichst rasche Oxydation entfernt, sondern der Weg des Abbaues über den Alkohol eingeschlagen worden, dessen Verbrennung schließlich zum Sinken des respiratorischen Quotienten genau so Anlaß gegeben hätte, wie in unserem Versuch mit exogenem Alkohol unter der Voraussetzung, daß sauerstoffreichere Nebenprodukte bei dieser Umsetzung zurückgehalten worden seien.

Wenn durch den eigentümlichen Befund in der Durchführung des Versuchsprogrammes der Arbeitsversuche eine Verzögerung eintrat, da wir keine Versuchsperson fanden, die wir dem oftmaligen Genuß so großer Zuckermengen neben vorwiegender Kohlenhydraternährung aussetzen konnten, so hoffen wir doch, in nicht allzu ferner Zeit auch über die Verbrennung des Alkohols bei der Arbeit berichten zu können.

Bei unseren Versuchen bedienten wir uns der Zuntzschen Methode, der Bestimmung des respiratorischen Gaswechsels, wobei ein Stoffwechselversuch nicht durchgeführt wurde. Die Versuchsperson (Brezina) genoß an den den Versuchen vorhergehenden Tagen so viel als ihr nur irgend möglich war an Mehlspeisen und vermied gleichzeitig jede größere Muskelanstrengung, so daß anzunehmen war, daß ein beträchtlicher Bestand an Glykogen vorhanden war und ein eventueller Ersatz mangelnden Glykogens nicht in den Bereich der Erwägungen gezogen werden mußte. Es sei hierbei auch auf die kürzlich

veröffentlichten Versuche von Benedict und Higgins[1]) verwiesen, die den respiratorischen Quotienten im Ruheversuch auch bei Nüchternheit höher fanden, so oft die Versuchsperson einige Tage vorher sich reichlicher mit Kohlenhydrat ernährt hatte.

Unsere Versuchsperson fuhr morgens am Versuchstage ins Institut, wo nach $^1/_2$stündigem, vollkommen ruhigem Liegen ein „Ruheversuch" angestellt wurde, um das Verhalten des Umsatzes vor der folgenden Beeinflussung feststellen zu könnnen. Unmittelbar nach dem Ruheversuch wurde Zucker in warmer, 30 $^0/_0$iger Zuckerlösung liegend aus einer Krankenschale getrunken. Nun folgten in bestimmten Zeitintervallen die weiteren Respirationsversuche, während derer die Versuchsperson bewegungslos lag. Auch während der Pausen wurde vollständige Körperruhe eingehalten bis auf die geringen Bewegungen, die beim Harnlassen ausgeführt werden mußten. Aber auch dies erfolgte in liegender Stellung. Die reichliche Harnsekretion im Gefolge der Zuckerzufuhr machte ein mehrmaliges Urinieren in jeder Versuchsreihe erforderlich. Natürlich geschah dies in den Versuchspausen. Verwendet wurden gereinigter Traubenzucker von Kahlbaum & Co. (Berlin) und Lävulose Schering (Chem. Fabr. auf Akt.).

Der Alkohol wurde im Laufe des Versuches mit Wasser verdünnt genommen, und zwar wurden 30 ccm 95 $^0/_0$iger Alkohol mit 100 ccm Wasser gegeben. Toxische Wirkungen traten bei der Versuchsperson niemals auf, obwohl diese nur an sehr mäßigen Alkoholgenuß gewöhnt ist. Die Exspirationsgase wurden im Zuntz-Geppertschen Apparat analysiert, der Sauerstoff mit Natriumhydrosulfit absorbiert, das uns stets vollkommen verläßliche Werte lieferte. Doppelbestimmungen, die um mehr als 0,03 $^0/_0$ differierten, wurden eliminiert.

Die Versuche teilen sich ein in solche mit Dextrose, solche mit Lävulose und solche mit Dextrose und Alkohol beziehungsweise mit Lävulose und Alkohol.

Versuche mit Dextrose allein sowie mit Dextrose und Alkohol.

Vorerst soll in den folgenden Ausführungen nur das Ergebnis unserer Beobachtungen wiedergegeben werden, ohne vorläufig auf eine Diskussion der gezogenen Schlüsse einzugehen, um die Versuchsresultate prägnanter hervorzuheben. In einem späteren Abschnitt werden dann die Einwände, die gegen die Deutung der Versuchsergebnisse erhoben werden können, sowie einschlägige Beobachtungen anderer Autoren berücksichtigt werden.

---

[1]) Benedict und Higgins, Amer. Journ. of Phys. 30, 217.

Versuch C vom 17. I. (Dextrose allein).

Tabelle I.

Nr.	Zufuhr	Zeit	Minutenvolumen beob. Liter	Minutenvolumen reduz. Liter	CO_2 %	O_2 %	R. Q.	Pro Minute CO_2 ccm	Pro Minute O_2 ccm	Veränderung gegen den Normalversuch: Ventilation Liter	CO_2 ccm	O_2 ccm
C 23		0′	7,13	6,62	2,94	3,52	0,835	194,5	232,9	—	—	—
	100 g Dextrose											
24	↓	10′	6,70	6,21	3,10	3,92	0,791	192,5	243,4	− 0,43	− 2,0	+ 10,5
25		30′	7,56	7,00	3,10	3,63	0,882	224,1	254,1	+ 0,43	+ 29,6	+ 22,2
26		45′	7,75	7,17	3,09	3,69	0,837	221,6	264,6	+ 0,62	+ 27,1	+ 31,7
27		1h 00′	8,64	7,99	2,86	3,19	0,897	228,4	254,8	+ 1,51	+ 33,9	+ 21,9
28		1h 15′	8,60	7,95	3,08	3,45	0,893	244,7	274,1	+ 1,47	+ 50,2	+ 41,2
29		1h 30′	8,45	7,80	2,95	3,24	0,911	230,2	252,8	+ 1,32	+ 35,7	+ 19,9
30		1h 45′	8,25	7,60	3,04	3,21	0,947	231,4	244,3	+ 1,12	+ 36,9	+ 11,4
31		2h 00′	8,74	8,06	2,93	2,94	0,997	236,1	236,9	+ 1,61	+ 41,6	+ 4,0
32		2h 20′	8,64	7,96	3,04	2,99	1,010	241,4	238,0	+ 1,51	+ 46,9	+ 6,9
33		2h 40′	8,39	7,72	2,63	2,78	0,946	203,1	214,7	+ 1,26	+ 8,6	− 18,2
34		3h 00′	8,34	7,67	2,58	3,00	0,860	197,9	230,1	+ 1,21	+ 3,4	− 2,8
35		3h 30′	7,77	6,14	3,25	3,32	0,886	200,9	237,1	+ 0,64	+ 15,4	+ 5,8
36		4h 00′	7,52	6,90	3,20	3,27	0,824	183,6	225,8	+ 0,39	− 10,9	− 7,1

Aus der voranstehenden Tabelle ergibt sich, daß 10 Minuten nach der Zufuhr von 100 g Dextrose noch keinerlei Steigerung der Ventilation oder des Umsatzes aufgetreten war; die Werte in dem ersten nach der Zuckerzufuhr ausgeführten Respirationsversuch decken sich mit jenen im Vorversuch in vollauf befriedigender Weise, so daß man mit Sicherheit sagen kann, daß die folgenden Beobachtungen keinesfalls durch die Nachwirkung vorangegangener Muskelarbeit beim Trinken der Dextroselösung beeinflußt sein konnten. Auch hier begegnen wir derselben Erscheinung, die schon in den Dextroseversuchen Durigs[1]) beobachtet worden war, daß im Beginne der Wirkung ein Sinken des respiratorischen Quotienten auftritt, das ausschließlich auf eine Vermehrung des Sauerstoffverbrauches zurückzuführen ist und nicht durch eine Modifikation der Atmung oder gesteigerte Atemarbeit nach vorangegangener Überventilation erklärt werden kann.

Eine halbe Stunde nach der Zuckerzufuhr ist der respiratorische Quotient bereits über den Nüchternwert gestiegen und

[1]) Denkschr. d. Wiener Akad. d. Wiss. 86, 196, hier auch die einschlägige Literatur.

weiterhin hebt er sich immer höher, bis er den Wert von „Eins" ungefähr 2 Stunden nach der Zuckerdarreichung erreicht hat als Zeichen dafür, daß jetzt die Verbrennung von Zucker in der Hauptsache den ganzen augenblicklichen Stoffwechsel beherrschte. Von diesem Höhepunkt sank der Quotient ziemlich rasch ab, und schon nach 4 Stunden war der im Vorversuch beobachtete Wert erreicht worden.

Ziemlich parallel mit dem Anstieg und Absinken des respiratorischen Quotienten verläuft auch die Zunahme der Ventilation, der man stets nach Darreichung größerer Zuckermengen begegnet, auch sie ist nach 4 Stunden annähernd wieder abgeklungen. Die Erhöhung des Quotienten war nicht bloß von einer Verschiebung der CO_2-Produktion im Sinne einer Vermehrung derselben begleitet, sondern auch mit einer Umsatzsteigerung verknüpft, die durch eine Zunahme des Sauerstoffverbrauches um mehr als 17 % gekennzeichnet ist. Auch diese Umsatzsteigerung war nach 4 Stunden beendet, so daß wir auf Grund des Versuchsergebnisses schließen können, daß die Wirkung der Zuckerzufuhr von der ersten halben Stunde an deutlich war, nach ungefähr 2 Stunden das Maximum erreichte und nach 4 Stunden abgeklungen war.

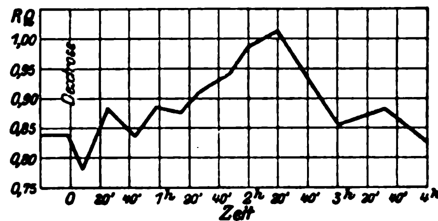


Fig. 1. Versuch C vom 17. I. mit 100 g Dextrose. Werte der respiratorischen Quotienten.

Das Verhalten des respiratorischen Quotienten ist graphisch in Fig. 1 wiedergegeben.

Versuch D vom 19. I. (Dextrose allein).

Dieser Versuch (Tabelle II) wurde genau analog dem ersten durchgeführt, abermals erfolgte im Anschluß an den Vorversuch die Dextrosegabe. Wieder sehen wir das Sinken des respiratorischen Quotienten 10 Minuten nach der Zuckerzufuhr unter Erhöhung des Sauerstoffverbrauches, und dann beginnt der Anstieg des respiratorischen Quotienten, des Atemvolums und des Umsatzes. Das Maximum der Wirkung ist ca. 1 Std. 45 Min. nach der Zuckerzufuhr erreicht, zu einer Zeit, zu der die Umsatzsteigerung in diesem Falle schon wieder gesunken ist. Diesmal hält sich der respiratorische Quotient etwas länger auf hohen Werten, die sogar etwas über „Eins" gelegen sind. Aber-

Tabelle II.

Nr.	Zufuhr	Zeit	Minutenvolumen beob. Liter	Minutenvolumen reduz. Liter	CO_2 %	O_2 %	R. Q.	pro Minute CO_2 ccm	pro Minute O_2 ccm	Veränderung gegen den Normalversuch Vol. Liter	Veränderung gegen den Normalversuch CO_2 ccm	Veränderung gegen den Normalversuch O_2 ccm
D 37		0′	6,56	5,96	3,22	3,98	0,809	191,9	237,2	—	—	—
	100g Dextrose											
38		10′	6,44	5,85	3,30	4,22	0,782	193,0	246,8	−0,12	+ 1,1	+ 9,6
39		30′	6,91	6,27	3,26	3,86	0,845	204,4	241,1	+0,38	+12,5	+ 3,9
40		45′	7,41	6,72	3,17	3,84	0,826	253,4	258,2	+0,85	+61,5	+21,0
41		1h 00′	7,52	6,82	3,44	3,96	0,869	234,6	270,1	+0,96	+41,7	+32,9
42		1h 15′	7,97	7,23	3,36	3,83	0,877	242,8	276,8	+1,41	+50,9	+39,6
43		1h 30′	7,88	7,44	3,20	3,39	0,944	228,5	242,1	+1,32	+36,6	+ 4,9
44		1h 45′	8,12	7,35	3,19	3,26	1,018	244,1	239,7	+1,56	+52,2	+ 2,5
45		2h 00′	7,44	6,73	3,28	—	—	220,8	—	+0,88	+29,9	—
46		2h 20′	7,77	7,03	3,43	3,32	1,033	241,1	233,3	+1,21	+50,2	− 3,9
47		2h 40′	8,05	7,28	2,92	2,93	0,997	212,4	213,2	+1,49	+20,5	−24,0
48		3h 00′	7,92	7,16	2,93	—	—	209,6	—	+1,36	+17,7	—
49		3h 30′	7,78	7,02	2,78	3,25	0,855	195,3	228,3	+1,22	+ 3,4	− 8,9
50		4h 00′	6,95	6,27	2,92	3,60	0,814	183,7	225,6	+0,39	− 8,2	−11,6

mals ist der Abfall des Quotienten nach einer Zeit von etwa $2^1/_2$ Std. nach der Zufuhr ein sehr rascher, so daß 4 Std. nach Beginn des Versuches der Normalwert vom Vorversuch erreicht ist. Auch hier fällt der nachweisbare Beginn und das Ende der Zuckerwirkung wieder zwischen die Zeit von $^1/_2$ bis 4 Std. nach der Zuckerzufuhr, das Maximum etwa in die Zeit 2 Std. nach derselben. Fig. 2 gibt graphisch den Verlauf des respiratorischen Quotienten.

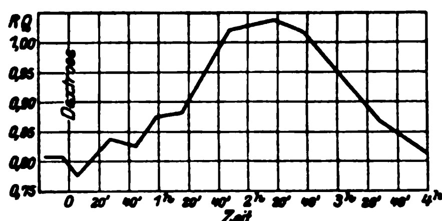


Fig. 2. Versuch D vom 19. I. mit 100 g Dextrose. Werte der respiratorischen Quotienten.

Versuch F vom 27. I.

Um zu entscheiden, welchen Einfluß vorangegangene Muskelarbeit ohne neue Kohlenhydratzufuhr auf den Gang des Versuches auszuüben vermöge, insbesondere um entscheiden zu können, ob reichlichere Ablagerung von Glykogen eventuell die Wirkung der Zuckerzufuhr im Respirationsversuch zu verwischen imstande sein würde, stellten wir nachstehenden Versuch an.

Die Versuchsperson turnte am Vortag des Versuches und ging dann am folgenden Morgen nüchtern den ziemlich weiten und ansteigenden Weg aus der Stadt zur Hochschule.

Tabelle III.

Dextroseversuch bei nicht vollem Glykogenbestand. 27. I.

Nr.	Zufuhr	Zeit	Minutenvolumen beob. Liter	Minutenvolumen reduz. Liter	CO_2 %	O_0 %	R. Q.	pro Minute CO_2 ccm	pro Minute O_2 ccm	Veränderung gegen den Normalversuch: Ventilation Liter	Veränderung gegen den Normalversuch: CO_2 ccm	Veränderung gegen den Normalversuch: O_2 ccm
F 64		0′	6,29	5,70	3,14	3,98	0,799	179,1	225,3	—	—	—
	100g Dextrose											
65	↓	10′	6,32	5,73	3,07	4,13	0,743	175,9	236,6	+ 0,03	− 3,2	+ 11,3
66		30′	6,51	5,90	3,23	4,32	0,747	190,0	254,7	+ 0,22	+ 10,9	+ 29,4
67		45′	7,22	6,53	3,22	3,99	0,805	210,4	260,7	+ 0,93	+ 31,3	+ 35,4
68		1h 00′	7,45	6,74	3,24	3,92	0,808	213,4	264,2	+ 1,16	+ 34,3	+ 38,9
69		1h 15′	7,13	6,45	3,32	4,09	0,812	214,0	263,7	+ 0,84	+ 35,1	+ 38,4
70		1h 30′	7,45	6,73	3,20	3,55	0,901	215,4	239,0	+ 1,16	+ 36,3	+ 13,7
71		1h 45′	7,69	6,94	3,50	3,69	0,949	243,0	256,2	+ 1,40	+ 54,1	+ 30,9
72		2h 00′	7,77	7,01	3,14	3,51	0,894	220,1	246,1	+ 1,43	+ 41,0	+ 20,8
73		2h 30′	8,29	7,47	2,97	3,32	0,894	222,0	248,1	+ 2,00	+ 43,1	+ 22,1
74		2h 40′	8,06	7,26	2,83	3,10	0,913	205,5	225,0	+ 1,77	+ 26,4	− 0,2
75		3h 00′	7,44	6,43	3,09	3,53	0,875	198,0	226,9	+ 0,85	+ 19,5	+ 1,6
76		3h 30′	7,82	7,03	2,80	3,61	0,776	196,9	253,8	+ 1,53	+ 17,8	+ 28,5
77		4h 00′	7,47	6,71	2,80	3,67	0,763	187,9	246,3	+ 1,18	+ 8,8	+ 21,0

Die Wirkung ist in den voranstehenden Zahlen unverkennbar zum Ausdrucke gekommen. Der respiratorische Quotient ist schon vom ersten Anfange an niedriger, auch steigt er nicht zur selben absoluten Höhe wie in den beiden vorangeführten Versuchen; der Unterschied zwischen dem niedrigsten und höchsten Wert, der auch diesmal wieder 1/2 Std. nach der Zuckerzufuhr bzw. ungefähr 2 Std. nach derselben gefunden wurde, ist fast der gleiche geblieben, die ganze Kurve ist nur ein wenig verzerrt und etwas gegen die niedrigeren Quotienten zu verlagert. Dies spricht dafür, daß während der Zeit maximaler Zuckerverbrennung annähernd gleiche Zuckermengen zur

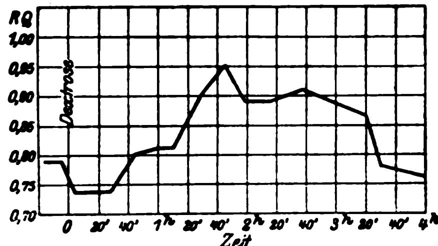


Fig. 3. Versuch F vom 27. I. Dextrosewirkung bei vermindertem Glykogenbestand. Werte der respiratorischen Quotienten.

Verbrennung gelangten. Die Steigerung des Umsatzes, der Ventilation und der CO_2-Produktion nähert sich zufriedenstellend den drei bereits erwähnten Versuchen. Kurve III zeigt wieder übersichtlich das Verhalten des respiratorischen Quotienten. Der Versuch beweist, daß selbst eine Glykogenverarmung des Körpers den typischen Anstieg der Kurve, die das Verhalten des respiratorischen Quotienten kennzeichnet, nicht verschiebt und daß der Anstieg auch unter diesen Verhältnissen, unter denen sicher im ganzen weniger Traubenzucker zur Verbrennung gelangte, vollkommen deutlich und zeitlich in der gleichen Weise ausgeprägt ist. Es ist dies um so bemerkenswerter, als der eben besprochene Versuch sich unmittelbar an den Alkohol-Zucker-Versuch vom 23. I. anschließt.

Vergleichen wir nun mit den angeführten Beobachtungen jene, in denen Zucker und diesem folgend Alkohol zu einer Zeit zugeführt wurde, zu der im zugehörigen Zuckerversuch der respiratorische Quotient deutlich im Anstieg begriffen war.

Dextrose-Alkohol-Versuch E vom 23. I.

Tabelle IV.

Nr.	Zufuhr	Zeit	Minutenvolum beob.	Minutenvolum reduz.	CO_2	O_2	R.Q.	pro Minute		Veränderung gegen den Normalversuch		
			Liter	Liter	%	%		CO_2 ccm	O_2 ccm	Vent. Liter	CO_2 ccm	O_2 ccm
E 51		0	7,10	6,54	2,86	3,38	0,846	187,1	220,6			
	100g Dextrose	0										
52	↓	10′	7,11	6,54	2,81	3,43	0,817	183,9	224,2	+ 0,01	− 3,2	+ 3,8
53		1h 00′	7,80	7,17	3,03	3,37	0,899	217,2	241,6	+ 0,70	+ 30,1	+ 29,0
54		1h 30′	7,76	7,18	3,07	3,46	0,887	218,7	246,6	+ 0,66	+ 31,6	+ 26,0
	30 ccm Alkohol	1h 42′										
55	↓ ↓	1h 45′	8,42	7,73	2,91	3,13	0.830	224,9	241,9	+ 1,32	+ 37,8	+ 21,3
56		2h 00′	8,70	7,98	2,93	3,25	0,902	233,8	259,4	+ 1,60	+ 46,7	+ 38,8
57		2h 15′	7,94	7,28	2,99	3,37	0,887	217,6	245,2	+ 0,84	+ 30,5	+ 24,6
58		2h 30′	7,62	6,98	2,97	3,43	0,866	207,3	239,2	+ 0,52	+ 20,2	+ 18,8
59		2h 45′	7,34	6,72	2,97	3,45	0,861	199,6	231,9	+ 0,24	+ 12,5	+ 11,3
60		3h 00′	7,77	7,11	2,73	3,16	0,864	194,1	224,6	+ 0,67	+ 7,0	+ 4,0
61		3h 20′	7,31	6,68	2,70	3,26	0,828	180,4	217,9	+ 0,21	− 6,7	− 2,7
62		3h 40′	7,65	6,99	2,91	3,37	0,864	203,4	235,5	+ 0,55	+ 16,3	+ 14,9
63		4h 00′	7,52	6,86	2,67	3,15	0,848	183,3	216,2	+ 0,42	− 3,8	+ 4,4

Kohlensäureproduktion, Sauerstoffverbrauch, bzw. der Umsatz, zeigen ein ganz ähnliches Verhalten wie im Zuckerversuch. Obwohl der Zucker, wie wir gleich sehen werden, in der Zeit

von ca. 2 bis 3 Stunden in wesentlich geringerem Ausmaße verbrannt wurde, ist doch die Erhöhung des Atemvolumens und der Verbrennungsvorgänge ganz deutlich zum Ausdruck gekommen, so daß man hieraus auf eine spezifische Wirkung, die sich im Gefolge der überreichen Zucker**zufuhr**, nicht aber im Gefolge der Zucker**verbrennung** einstellt, schließen kann[1]).

Ganz abweichend ist das Verhalten des respiratorischen Quotienten. Besser als Zahlen sagt dies nachstehende Kurve.

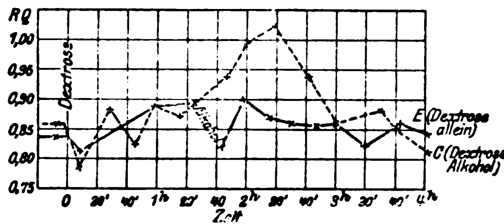


Fig. 4. Versuch C vom 17. I. Zufuhr von 100 g Dextrose und Versuch E vom 23. I. Zufuhr von 100 g Dextrose und $1^h 42'$ nachher 30 ccm Alkohol. Werte der respiratorischen Quotienten.

Sowohl im Dextrose- wie im Dextrose-Alkohol-Versuch lagen die respiratorischen Quotienten zu Beginn recht gleichartig. Beide zeigen das anfängliche geringe Sinken, beide einen übereinstimmenden Anstieg, der nur im Versuche C (Dextrose allein) etwas unregelmäßiger ist. 1 Std. 25 Min. nach der Zuckerzufuhr war in beiden Fällen ein gleich hoher Quotient beobachtet worden. Ohne eine gewagte Behauptung aufzustellen, kann man demnach als sicher annehmen, daß, wenn im Versuch E kein besonderer Einfluß sich geltend gemacht hätte, auch in diesem 2 Stunden nach der Zuckerzufuhr der Quotient 1 erreicht worden wäre.

Nun wurden aber 1 Std. 42 Min. nach der Zuckerzufuhr 30 ccm Alkohol gegeben, es mußte also die steigende Tendenz des Quotienten in Konkurrenz treten mit der Alkoholwirkung, die sich dann, wenn Alkohol zur Verbrennung gelangen würde, in einem geringeren Anstieg, einem Konstantbleiben oder Sinken des R. Q. ausdrücken mußte, je nachdem die Mengen von Alkohol, die zur Verbrennung gelangen würden, größer oder kleiner wären.

---

[1]) Siehe diesbezüglich auch die Ausführungen von Zuntz, Med. Klinik **1910**, und Hári, diese Zeitschr. **44**, 1912.

3 Minuten nach der Alkoholzufuhr, also 1 Std. 45 Min. nach der Zuckerzufuhr, begann der Respirationsversuch, der in 8 Min. zu Ende war, also jedenfalls in jene Zeit fiel, in der im Normal-Zuckerversuch der respiratorische Quotient ganz oder nahezu ganz auf eins gestiegen war.

Es zeigte sich aber, daß der Quotient im Alkohol-Zuckerversuch nicht nur nicht gestiegen, sondern weit unter den Wert, den wir im Beginn der Zuckerverbrennung beobachet hatten, ja sogar unter den Wert des Vorversuchs gesunken war.

Dieses Verhalten erweist, daß sofort nach der Zufuhr des Alkohols selbst bei Vorhandensein überschüssiger reichlicher Zuckermengen die Verbrennung des Zuckers eingeschränkt worden ist und an deren Stelle die Verbrennung von Alkohol trat. Es ist demnach der Alkohol als leichter oxydables Material rascher zur Oxydation herangezogen worden; dadurch ist auch erwiesen, um wieviel rascher die Resorption des Alkohols vor sich ging als jene der Dextrose, bei der über eine halbe Stunde bis zum Einsetzen deutlicher Wirkung verstreichen mußte. Man könnte bei dieser Erscheinung, dem Sinken des Quotienten, einerseits an eine Herabsetzung des Stoffwechsels durch die narkotische Wirkung des Alkohols denken, andererseits aber vermuten, daß die Kohlenhydratverbrennung ungehindert wie im Normalversuche ihren Fortgang nimmt und der Alkohol nur nebenher in so großer Menge verbrannt wird, daß der R. Q. auf so niedrige Werte absinkt. Daß beide Einwände leicht zu widerlegen sind, wird an späterer Stelle gezeigt werden.

In dem 2 Stunden nach der Zuckerzufuhr durchgeführten Versuch liegt der R. Q. wesentlich höher als im ersten Beginn der Wirkung der Alkoholzufuhr, nichts destoweniger ist der Wert aber kaum größer als jener im ersten Beginne der Zuckerwirkung, also der Zeit von 1 Std. 25 Min. nach der Zuckerzufuhr entsprechend. Bezeichnend ist die Tatsache, daß nach 3 Std. 40 Min. im Alkohol-Zucker-Versuch der R.Q. die Werte vom Zuckerversuch überschreitet, ganz analog wie dies in den Versuchen Durigs auf dem Bilkengrat der Fall gewesen war. Dies mußte ebenso gedeutet werden wie hier, daß durch die Alkoholverbrennung erspartes Kohlenhydrat zu einer Zeit im

Alkoholversuch noch zur Verfügung stand, zu der es im Dextroseversuch bereits verbraucht worden war.

Versuch J vom 18. III. Dextrose-Alkohol-Versuch.

Um zu erweisen, daß der am 19. I. und 23. I. erhobene Befund nicht etwa ein zufälliger sei, wurde ein zweiter Parallelversuch durchgeführt. Wieder wurde, ganz analog wie im Dextroseversuch, zuerst die Beobachtung (Nr. 107) ausgeführt, dann die Dextrose (100 g verabreicht) und der Zeitpunkt abgewartet, zu dem der Quotient im kräftigen Anstieg begriffen sein mußte und zu dieser Zeit der Alkohol gegeben. Es sei erwähnt, daß dieser Dextrose-Alkohol-Versuch sich an die Lävuloseversuche anschließt, daß also von einer Gewöhnung an die Dextrosezufuhr, von der oben die Rede war, nicht gesprochen werden kann.

Tabelle V.

Dextrose-Alkohol 18. III.

Nr.	Zufuhr	Zeit	Minutenvolum beob.	Minutenvolum reduz.	CO_2	O_2	R.Q.	pro Minute		Veränderung gegen den Normalversuch		
			Liter	Liter	%	%		CO_2 ccm	O_2 ccm	Vent. Liter	CO_2 ccm	O_2 ccm
I 107		0	6,36	5,71	3,45	4,09	0,844	196,9	233,5	—	—	—
	100 g Dextrose	0										
108	↓	10′	6,30	5,67	3,34	4,15	0,805	189,3	235,2	− 0,06	− 7,6	+ 1,7
109		1h 00′	8,28	7,45	3,03	3,44	0,881	225,7	256,3	+ 1,92	+ 28,8	+ 22,8
110		1h 25′	8,10	7,28	3,17	3,46	0,916	230,7	251,8	+ 1,74	+ 33,8	+ 18,3
	30 ccm Alkohol	1h 40′										
111	↓ ↓	1h 45′	8,72	7,83	3,04	3,51	0,866	239,2	275,0	+ 1,36	+ 42,3	+ 41,5
112		1h 55′	8,47	7,61	2,99	3,42	0,874	227,4	260,2	+ 1,11	+ 30,5	+ 26,7
113		2h 05′	8,68	7,79	2,91	3,35	0,869	226,7	261,0	+ 2,32	+ 29,8	+ 27,5
114		2h 18′	8,54	7,66	2,94	3,32	0,886	225,3	254,4	+ 2,18	+ 28,4	+ 20,9
115		2h 30′	7,74	6,94	3,18	3,71	0,877	220,7	257,5	+ 1,38	+ 23,8	+ 24,0
116		2h 45′	7,83	7,02	2,97	3,45	0,861	208,4	242,1	+ 1,47	+ 11,5	+ 8,6
117		3h 00′	7,32	6,56	2,96	3,56	0,833	194,1	233,5	+ 0,96	− 2,8	0,0
118		3h 20′	7,46	6,68	3,04	3,58	0,866	203,1	239,1	+ 1,10	+ 6,2	+ 5,6
119		3h 40′	7,45	6,67	3,03	3,56	0,871	202,1	237,5	+ 1,09	+ 5,2	+ 4,0

Das Bild ist sicher genau dasselbe. Umsatz, Ventilationssteigerung und Vermehrung der CO_2-Produktion begegnen wir auch hier, auffallenderweise bleibt die Ventilationssteigerung auch nach mehr als $3^1/_2$ Stunden noch fortbestehen. Wieder soll die Zusammenstellung der Kurven des Dextrose- und des Dextrose-Alkohol-Versuches die Verhältnisse illustrieren.

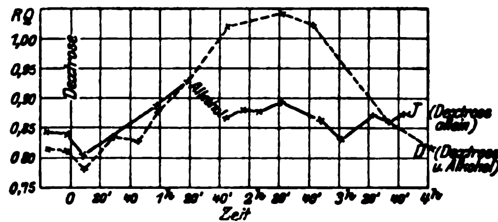


Fig. 5. Versuch D vom 19. I. Zufuhr von 100 g Dextrose und Versuch J vom 18. III. Zufuhr von 100 g Dextrose und 1^h 40′ nachher 30 ccm Alkohol. Werte der respiratorischen Quotienten.

Im Dextrose- und Dextrose-Alkoholversuch ist der Anstieg der respiratorischen Quotienten derselbe bis zu dem Augenblick, in dem in einem Versuch der Alkohol gegeben wird. In beiden Fällen finden wir den anfänglichen Knick nach unten im ersten Versuch nach der Zuckerdarreichung. Wieder liegen 1 Std. 20 Min. nach der Zuckerzufuhr beide Quotienten gleich hoch, nun wurden die 30 ccm Alkohol gegeben, und 5 Min. später mit dem Respirationsversuch begonnen; sofort war der Aufstieg des respiratorischen Quotienten unterbrochen und in ein Sinken verkehrt, das denselben dauernd niedrig hielt. In der Zeit, zu der im Normalversuch die Haupt-Zuckerverbrennung vorüber war, stieg der Wert des Quotienten im Zucker-Alkoholversuch über jenen im Zuckerversuch, es wurde also abermals im Alkoholversuch Kohlenhydrat zu einer Zeit noch reichlicher verbrannt, zu der im Zuckerversuch keine so großen Mengen mehr zur Verfügung waren.

Genau so wie in den erstangeführten beiden Versuchsserien hat die Alkoholzufuhr auch hier sofort die Kohlenhydratverbrennung eingeschränkt; obwohl im Körper überreichlich Kohlenhydrat vorhanden war, das unter anderen Umständen sofort zur Oxydation herangezogen worden wäre, wurde an Stelle von Zucker Alkohol zur Verbrennung gebracht.

Nach diesen Ergebnissen schien es fast selbstverständlich, daß bei der rapiden Wirkung der Alkoholzufuhr auf den Kohlenhydratstoffwechsel, dann wenn Traubenzucker zugleich mit Alkohol gegeben würde, das Ansteigen der Kurve, die das Verhalten des respiratorischen Quotienten kennzeichnet, von allem

Anfange an vermindert werden müsse. Zu diesem Zwecke wurde Versuch P angestellt. Die Versuchsperson war, wieder in gleicher Weise mit Kohlenhydrat überfüttert, am Morgen ins Institut gekommen, nach dem Vorversuch waren sofort 30 g Alkohol und 100 g Dextrose gleichzeitig gegeben worden. 10 Min. später begannen die weiteren Respirationsversuche.

Versuch vom 3. V. Dextrose und Alkohol gleichzeitig.

Tabelle VI.

Nr.	Zufuhr	Zeit	Minutenvolum beob. Liter	Minutenvolum reduz. Liter	CO_2 %	O_2 %	R. Q.	pro Minute CO_2 ccm	pro Minute O_2 ccm	Veränderung gegen den Normalversuch Vent. Liter	CO_2 ccm	O_2 ccm
P 164	100g Dextrose 30 ccm Alkohol ↓ ↓		6,67	6,08	2,92	3,53	0,827	177,4	214,5	—	—	—
165		10′	6,34	5,78	3,07	4,23	0,726	177,3	244,3	− 0,33	− 1,0	+ 29,8
166		30′	6,99	6,37	2,88	3,91	0,737	183,4	249,0	+ 0,33	+ 6,0	+ 34,5
167		45′	7,33	6,67	2,97	3,89	0,764	198,2	259,6	+ 0,66	+ 20,8	+ 45,1
168		1h 00′	7,43	6,76	2,95	3,80	0,776	199,6	257,0	+ 0,76	+ 22,2	+ 42,5
169		1h 15′	7,58	6,90	3,06	3,85	0,795	211,2	265,7	+ 0,91	+ 33,8	+ 51,2
170		1h 30′	7,34	6,68	3,04	3,80	0,800	203,1	255,9	+ 0,67	+ 25,7	+ 39,4
171		1h 45′	7,73	7,04	2,94	3,62	0,812	206,8	254,7	+ 1,06	+ 29,4	+ 40,2
172		2h 00′	7,51	6,83	3,09	3,70	0,835	211,2	252,4	+ 0,84	+ 33,8	+ 38,4
173		2h 20′	7,63	6,94	3,12	3,62	0,862	216,6	251,3	+ 0,96	+ 39,2	+ 36,4
174		2h 40′	7,72	7,02	3,08	3,44	0,895	211,3	241,6	+ 1,05	+ 38,9	+ 27,1
175		3h 00′	7,53	6,85	2,97	3,57	0,834	203,4	244,5	+ 0,86	+ 26,0	+ 30,0
176		3h 30′	7,36	6,69	3,05	3,70	0,824	204,1	247,6	+ 0,69	+ 26,7	+ 33,1
177		4h 00′	6,49	5.90	3,07	3,85	0,797	181,1	227,1	− 1,80	+ 3,7	+ 12,6

Auch hier fällt weder die Umsatzsteigerung noch die Ventilationssteigerung weg, nur das Verhalten des respiratorischen Quotienten ist gegenüber dem Zuckerversuch ein vollkommen geändertes. In beistehender Kurve sind die Werte des respiratorischen Quotienten im Alkoholversuch P und die Mittel der Werte der Quotienten aus den Dextroseversuchen C und D eingetragen.

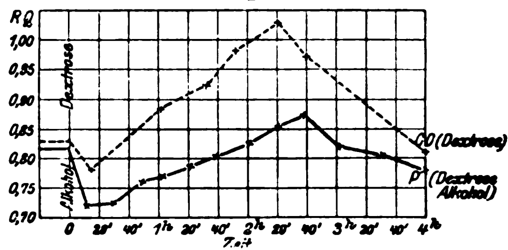


Fig. 6. Mittel der Versuche C und D bei Zufuhr von 100 g Dextrose und Versuch P vom 3. V. bei gleichzeitiger Verabreichung von Dextrose und Alkohol. Werte der respiratorischen Quotienten.

Abermals zeigte sich trotz der gleichzeitigen Zucker- und Alkoholzufuhr wieder das charakteristische Sinken der R. Q. im 10 Min. nach der Darreichung ausgeführten Versuch. Im Alkohol-Zuckerversuch war es nun noch viel intensiver ausgesprochen. Im weiteren hielt sich der Quotient im Alkoholversuch dauernd wesentlich niedriger, so daß es den Anschein hat, als wären die beiden Kurven parallel gegeneinander verschoben — oben jene der Quotienten des Zuckerversuches, unten jene der Quotienten nach Alkoholzufuhr.

Auch dieses Resultat ist ein neuerlicher Beweis dafür, daß Kohlenhydrat, das sonst vom Körper möglichst rasch verbrannt wird, unter dem Einflusse von Alkohol nicht zur Verbrennung gelangt, indem der für die Lieferung der erforderlichen Calorien aus Oxydationsprozessen bereitgestellte Sauerstoff zur Oxydation des leichter verbrennlichen Alkohols verwendet wird.

Wollte man das Verhalten vom Zweckmäßigkeitsstandpunkte aus beurteilen, so würde man zum Eindrucke gelangen, daß Alkohol und große Zuckermengen dem Körper schädlich sind. Zu reichlicher Kohlenhydratmengen entledigt sich der Körper hauptsächlich durch rasche Oxydation, wenn es die Verhältnisse unmöglich machen, das Kohlenhydrat in Form des unschädlichen Reservestoffes Glykogen aufzuspeichern, oder wenn zu rasch Zucker in das Blut gelangt, als daß dieser hinreichend schnell in Fett umgebaut werden könnte, um den Körper vom Überschuß zu befreien. Auch der Umbau in Milchsäure und eventuell Alkohol in der Leber, den wir als mögliche Ursache für die Erscheinung der Gewöhnung angeführt haben, wäre im selben Sinne zu deuten. Endlich tritt auch Elimination des Zuckers im Harn ein, wenn der Blutzuckergehalt ein zu großer geworden ist.

Auch des Alkohols — wenigstens größeren Mengen Alkohols — trachtet sich der Körper rasch zu entledigen. Die Frage, ob Alkohol im Tierkörper in Fett oder Kohlenhydrat umgebaut werden kann, ist wohl noch nicht entschieden, so daß es fraglich ist, ob aller Alkohol verbrennen muß; sicher ist aber, daß Alkohol in kleinen Mengen im Tierkörper entsteht, diese scheinen für ihn nicht giftig zu sein. Werden größere Mengen

eingeführt, so müssen diese, da sie giftiger sind als Zucker, auch schneller weggeschafft werden, wofür die Oxydation der einfachste Weg ist. Dies würde auch dafür sprechen, daß dann, wenn kleine Alkoholgaben in verdünntem Zustande über den Tag verteilt werden und eventuell durch raschen Konsum bei angestrengter Arbeit dafür gesorgt ist, daß größere Alkoholquantitäten im Blut niemals auftreten, die toxische Wirkung eine viel geringere ist[1]).

Versuche mit Lävulose und mit Lävulose und Alkohol.

Die Versuche mit der Lävulose wurden ganz so wie jene mit der Dextrose ausgeführt. Es gelangten im ganzen 5 Versuchsserien zur Durchführung, von denen 2 die Zufuhr von Lävulose und Alkohol betreffen.

Versuch G vom 30. I. und H vom 23. II. Zufuhr von 100 g Lävulose.

Tabelle VII.

Versuch G vom 30. I. Lävulose.

Nr.	Zufuhr	Zeit	Minutenvolumen beob. Liter	Minutenvolumen red. Liter	CO_2 %	O_2 %	R. Q.	pro Minute		Veränderung gegen den Normalversuch		
								CO_2 ccm	O_2 ccm	Vol. Liter	CO_2 ccm	O_2 ccm
G 78		0′	6,70	6,18	3,11	3,54	0,879	192,2	218,8	—	—	—
	100 g Lävulose											
79	↓	10′	6,83	6,30	3,22	3,55	0,907	202,9	223,7	+ 0,13	+ 10,7	+ 5,9
80		30′	7,25	6,68	3,29	3,28	1,007	219,9	219,2	+ 0,55	+ 27,7	+ 0,4
81		45′	7,92	7,92	3,19	3,14	1,016	232,9	229,2	+ 0,22	+ 40,5	+ 10,4
82		1h 00′	7,80	7,19	3,21	3,27	0,982	230,7	255,0	+ 1,10	+ 38,5	+ 16,2
83		1h 15′	8,17	7,52	3,30	3,26	1,012	248,3	245,3	+ 1,47	+ 56,1	+ 26,5
84		1h 30′	8,24	7,59	3,00	3,00	1,024	227,6	227,6	+ 1,54	+ 35,4	+ 8,5
85		2h 00′	8,00	7,36	3,11	2,96	1,051	228,3	217,8	+ 1,30	+ 24,1	— 1,0
86		2h 15′	8,18	7,52	2,99	2,98	1,003	224,9	224,2	+ 1,48	+ 32,7	+ 5,4
87		2h 30′	8,10	7,45	2,97	3,03	0,977	221,2	225,7	+ 1,40	+ 29,0	+ 6,9
88		2h 45′	7,99	7,34	2,88	3,01	0,978	211,5	221,0	+ 1,29	+ 19,3	+ 2,2
89		3h 00′	8,18	7,51	2,67	2,96	0,902	200,6	222,4	+ 1,48	+ 18,4	+ 3,6
90		3h 30′	7,35	6,75	2,97	3,16	0,940	200,3	213,1	+ 0,65	+ 7,1	— 5,7
91a		4h 00′	7,15	6,55	3,42	3,71	0,922	224,1	243,1	+ 0,45	+ 31,9	+ 24,3

Die beiden Versuche (Tabelle VII u. VIII) zeigen ein analoges Bild, das insofern mit dem übereinstimmt, was bei den Dextroseversuchen zu beobachten war, als im Gefolge der Lävulose-

[1]) S. auch Pringsheim, diese Zeitschr. 12, 143.

Tabelle VIII.

Versuch H vom 23. II. Lävulose.

Nr.	Zufuhr	Zeit	Minutenvolumen beob.	Minutenvolumen red.	CO_2	O_2	R. Q.	pro Minute		Veränderung gegen den Normalversuch		
			Liter	Liter	%	%		CO_2 ccm	O_2 ccm	Vol. Liter	CO_2 ccm	O_2 ccm
H 91 b		0′	7,30	6,58	2,91	3,36	0,866	191,4	221,0	—	—	—
	100 g Lävulose											
92	↓	20′	7,90	7,12	3,12	3,04	1,026	222,0	216,3	+ 0,60	+ 30,6	— 4,7
93		30′	8,67	7,81	3,09	3,04	1,086	241,2	237,3	+ 1,37	+ 49,8	+ 16,3
94		45′	8,64	7,77	3,24	3,23	1,003	251,8	251,4	+ 1,34	+ 60,4	+ 30,3
95		1h 00′	8,72	7,84	2,94	2,99	0,983	230,6	234,5	+ 1,42	+ 39,2	+ 13,5
96		1h 20′	9,00	8,09	3,06	3,02	1,013	247,6	244,3	+ 1,70	+ 56,2	+ 17,3
97		2h 15′	8,25	7,40	3,14	3,18	0,987	232,4	235,4	+ 0,95	+ 41,0	+ 14,4
98		2h 45′	6,97	6,25	3,15	3,53	0,892	196,8	220,5	— 0,05	+ 5,7	— 0,5
99		3h 15′	7,33	6,56	2,85	3,42	0,833	186,7	224,5	+ 0,03	— 4,7	+ 3,5

zufuhr ebenso Ventilationssteigerung und Umsatzsteigerung auftrat. Anders verhielt sich der respiratorische Quotient, wie die nachstehenden beiden Kurven zeigen.

Bereits 10 Min. nach der Lävulosezufuhr ist, entgegen dem Verhalten im Dextroseversuch, bei dem der Quotient absank, der Quotient noch gestiegen, und nach 30 Min. hat er bereits den Wert Eins erreicht oder überstiegen, wogegen bei den Dextroseversuchen immer etwa 2 Std. verstrichen, bis die maximalen Werte des Quotienten erreicht waren. Allerdings lag der Quotient bei den Lävuloseversuchen schon im Vorversuche nicht unbeträchtlich höher als bei den oben beschriebenen Beobachtungen; doch genügt dieser Umstand keineswegs, das sofortige Ansteigen des Quotienten im Lävuloseversuch gegenüber dem anfänglichen Dextroseversuch zu erklären.

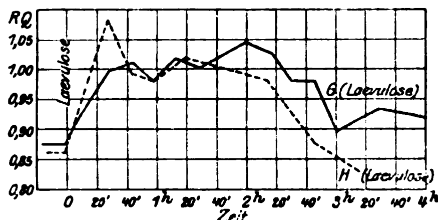


Fig. 7. Versuch G vom 30. I. und H vom 23. II. Zufuhr von 100 g Lävulose. Werte der respiratorischen Quotienten.

Da über die Schnelligkeit der Resorption der Lävulose im Darm keine eindeutigen Angaben vorliegen, können wir aus diesem Verhalten mit größter Wahrscheinlichkeit schließen, daß der Körper die Lävulose rascher aufnimmt oder zum

mindesten rascher zu verbrennen bestrebt ist als die Dextrose, was auch in gewisser Übereinstimmung damit stehen mag, daß der Diabetiker Lävulose besser verwertet als Dextrose, denn es scheint ferner, daß die Lävulose auch reichlicher zur Fettbildung herangezogen wird als die Dextrose, da wir beim Lävuloseversuch viel öfter und höher über dem Eins-Wert liegende Quotienten beobachteten, wie dies aus obigen Kurven hervorgeht. Es ist dieses Resultat deswegen noch auffallender, als trotz der Gabe von 100 g Lävulose dem Körper in unseren Versuchen doch weniger Kohlenhydrat zur Verfügung stand als bei den Dextroseversuchen, denn die Versuchsperson wurde speziell in den Versuchen G und H von heftiger Diarrhöe befallen und hat dadurch sicher Lävulose unausgenützt verloren. Wieviel, vermögen wir nicht zu sagen, da der Stuhl nicht aufgehoben und untersucht wurde. Nach der durch die Entleerung bedingten Unterbrechung lag die Versuchsperson $^1/_2$ Std. ruhig und dann wurde erst der nächste Respirationsversuch begonnen; trotz alledem war aber der Quotient in beiden Versuchen auch nach der Diarrhöe noch über „Eins“ geblieben, und selbst nach 4 Std. lag er noch höher als im Nüchternversuche; es fand also hier noch ausgesprochen vermehrte Zuckerverbrennung statt, während diese im Dextroseversuch zur selben Zeit jedenfalls schon stark in den Hintergrund getreten war.

Vergleicht man die reproduzierten Kurven von den Dextrose- und den Lävuloseversuchen, so zeigen diese schon nach dem ganzen äußeren Bilde, was man aus den Zahlen erschließen konnte, daß die Verbrennung der Lävulose viel rascher einsetzte als jene der Dextrose und daß sie länger auf großer Höhe blieb, aber auch rascher wieder absank. Die Menge des Zuckers, die im einen Falle wie im anderen während der gleichen Zeit verbrannt wurde, ist ebenfalls etwas größer bei der Lävulose, soweit man dies daraus ableiten kann, wenn man die Flächen planimetrisch abmißt, die der Zeit der ausgesprochen bevorzugten Zuckerverbrennung in beiden Fällen entsprechen (2 Std. 20 Min.), und nach den Quotienten, die während dieser Zeit beobachtet wurden, den entsprechenden Sauerstoffverbrauch auf Kohlenhydratverbrennung umrechnet[1]).

---

[1]) Es ergab sich dabei für die Versuche G und H (Lävulose) und für Dextrose aus Versuch D ein Verhältnis von 40 : 34.

Jedenfalls wird man aus dem übereinstimmenden Verhalten in den Lävuloseversuchen mit voller Sicherheit annehmen können, daß der Verlauf der Zuckerverbrennung im Lävulose-Alkohol-Versuch genau derselbe sein müßte, insofern nicht der Einfluß der Alkoholverbrennung eine Verschiebung herbeizuführen vermag.

Wir führten aber zur Sicherstellung und insbesondere darum, um die eventuelle neuerliche Diarrhöe auszuschalten, einen weiteren Lävuloseversuch derart durch, daß wir am 21. III. die Lävulose in Dosen zu je 30 g in stündlichen Intervallen verabreichten, hoffend, auf diese Weise die Toleranz des Darmes nicht zu überschreiten und die respiratorischen Quotienten nach dem Vorgange von Johansson gleichmäßig hoch halten zu können.

Versuch K vom 21. III. Dreimal 30 g Lävulose.

Tabelle IX.

Nr.	Zufuhr	Zeit	Minutenvolumen beob. Liter	Minutenvolumen red. Liter	CO_2 %	O_2 %	R. Q.	pro Minute CO_2 ccm	pro Minute O_2 ccm	Veränderung gegen den Normalversuch Ventilation Liter	Veränderung gegen den Normalversuch CO_2 ccm	Veränderung gegen den Normalversuch O_2 ccm
K 120		0′	7,20	6,57	2,99	3,31	0,903	196,0	217,5	—	—	—
	30 g Lävulose											
121	↓	30′	7,73	7,09	3,55	3,50	1,104	251,8	248,3	0,53	55,3	30,8
122		45′	7,94	7,28	3,27	3,28	0,997	238,1	238,9	0,74	41,6	21,4
	30 g Lävulose											
123	↓	1h 15′	7,74	7,09	3,26	3,30	0,988	231,1	234,0	0,54	34,6	16,5
124		2h 00′	8,00	7,32	3,45	3,50	0,986	252,5	256,2	0,80	64,0	38,7
	30 g Lävulose											
125	↓	3h 00′	7,70	7,02	3,57	3,61	0,991	250,7	253,5	0,50	54,2	36,0

Umsatz und Ventilationssteigerung entsprechen dem bisher stets Beobachteten. Entsprechend der Fortdauer der Lävulosewirkung bleiben beide auch noch 3 Std. nach der ersten Lävulosezufuhr dauernd erhöht. Folgendes Diagramm gibt den Verlauf der Verbrennung nach dem Verhalten des R. Q. wieder (Fig. 8).

Im Wesen entspricht das Verhalten des Quotienten in der Kurve *K* ganz jenem in den Versuchen G und H. Auch hier hat sich wieder gezeigt, daß der glykogenreiche Körper die zugeführte Lävulose sofort zur Verbrennung bringt, und zwar

rascher als die Dextrose. Dem Diagramm des Versuches K ist auch noch jenes des Versuches M beigegeben, in dem Alkohol neben Lävulose zur Verbrennung gelangte; nachstehende Tabelle gibt die gefundenen Werte wieder[1]).

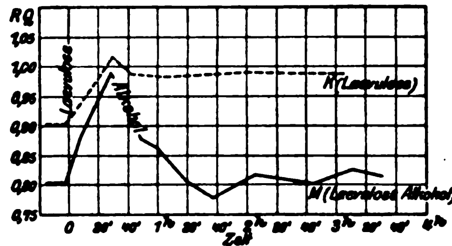


Fig. 8. Versuch K vom 21. III. mit 3 × 30 g Lävulose und M vom 1. IV. mit 3 × 30 g Lävulose und 30 g Alkohol 40 Min. nach der Zuckerzufuhr. Werte der respiratorischen Quotienten.

Versuch M vom 1. IV. mit 3 × 30 g Lävulose und 30 ccm Alkohol.

Tabelle X.

Nr.	Zufuhr	Zeit	Minutenvolumen beob. Liter	Minutenvolumen reduz. Liter	CO_2 %	O_2 %	R. Q.	pro Minute CO_2 ccm	pro Minute O_2 ccm	Veränderung gegen den Normalversuch: Ventilation Liter	CO_2 ccm	O_2 ccm
M136		0'	6,00	5,42	3,40	4,23	0,804	184,1	225,3	—	—	—
	30 g Lävulose ↓											
137		10'	7,06	6,37	3,27	3,76	0,870	208,2	239,3	+ 1,06	+ 24,1	+ 14,0
138		30'	7,88	7,10	3,20	3,22	0,994	227,3	228,7	+ 1,88	+ 43,2	+ 3,4
	30 ccm Alkohol ↓ ↓	45'										
139		50'	7,74	6,97	3,10	3,49	0,888	216,1	243,3	+ 1,74	+ 32,0	+ 18,0
140		1h 05'	7,62	6,86	2,99	3,53	0,867	205,2	242,3	+ 1,62	+ 21,1	+ 17,0
	30 g Lävulose ↓ ↓											
141		1h 20'	7,45	6,71	3,16	3,94	0,802	212,0	264,3	+ 1,40	+ 27,9	+ 39,0
142		1h 35'	8,10	7,29	2,81	3,65	0,770	204,8	266,0	+ 2,10	+ 20,7	+ 40,7
143		2h 05'	7,84	7,05	2,94	3,60	0,817	207,2	253,9	+ 1,84	+ 23,1	+ 28,6
	30 g Lävulose ↓ ↓											
144		2h 20'	7,52	6,76	2,90	3,57	0,812	196,2	241,1	+ 1,52	+ 12,0	+ 15,8
145		2h 40'	7,52	6,76	3,11	3,86	0,806	210,2	261,0	+ 1,52	+ 26,2	+ 36,3
146		3h 00'	7,88	7,08	2,91	3,53	0,824	206,1	250,1	+ 1,88	+ 22,0	+ 24,8
147		3h 30'	7,45	6,69	2,90	3,57	0,813	194,1	239,1	+ 1,45	+ 10,0	+ 13,8

Wie die Tabelle zeigt, liegen die Verhältnisse wieder so wie bei den Dextroseversuchen, nur mit dem Unterschied, der der Lävuloseverbrennung gegenüber der Dextroseverbrennung eigen ist. Sofort nach der Lävulosezufuhr war der Quotient in die Höhe geschnellt und nach 30 Minuten bereits bis

[1]) Vgl. auch später Fig. 9 auf S. 333.

fast auf den „Eins“-Wert gestiegen, obwohl der Quotient im Vorversuch der Serie M vor der Lävulosedarreichung sogar wesentlich niedriger gewesen war als im Kontrollversuch K. Also auch im Lävulose-Alkohol-Versuch war die Tendenz ganz unzweifelhaft dieselbe wie im Lävuloseversuch, und es wäre der Quotient sicher durch Stunden auf dem Werte „Eins“ geblieben wie bei K oder in den Versuchen H und G.

Der 5 Minuten nach der Alkoholzufuhr begonnene Respirationsversuch 139 zeigt aber sofort den niedrigen Quotienten, der dann in der Folge noch weiter zu tiefen Werten, tieferen als im Ausgangsversuch, absank. Der Körper hat also, trotzdem nachträglich immer wieder Lävulose neu zugeführt wurde und trotzdem dieses Mal Lävulose durch Diarrhöe nicht verloren ging, also deren volle Menge wirksam sein mußte, die überreichlich vorhandene Lävulose nicht zur Verbrennung gebracht, obwohl er Lävulose allein sofort angegriffen hätte. Nebenher bestanden die anderen Wirkungen der Lävulose im Körper ungeändert fort. Sowohl die Ventilationssteigerung wie die Umsatzsteigerung sind vorhanden gewesen, wie wenn kein Alkohol gegeben worden wäre.

Aus dem Versuch geht mit Sicherheit hervor, daß der Alkohol hier, gerade so wie dies Völtz nachgewiesen hat, keineswegs so schnell verbrennt und eliminiert wird, wie man vielfach annahm. In unserem Versuche war der Alkohol 2 Std. 30 Min. nach der Zufuhr jedenfalls noch nicht vollständig verbrannt, denn sonst hätte die Wirkung der letzten Lävulosegabe 2 Stunden nach dem Beginn des Zuckerversuchs unfehlbar ein Steigen des Quotienten zur Folge haben müssen.

Es haben somit die Versuche über die Wirkung von Lävulose und Alkohol genau zum nämlichen Resultat geführt, wie jene mit Dextrose und Alkohol, jedoch mit dem Unterschiede, daß das rasche Eintreten des Alkohols anstatt der Zuckerverbrennung bei ersteren wegen des rascheren Anstiegs und längeren Einhaltens hoher Werte des respiratorischen Quotienten nur noch drastischer ist, als bei den Dextroseversuchen.

Auch im Lävuloseversuch hat Alkohol die Lävulose aus der Verbrennung verdrängt und es hat daher Alkohol Lävulose ebenso gespart wie Dextrose.

Der Umfang der Sparwirkung des Alkohols.

Wenn durch die voranstehenden Versuche erwiesen wurde, daß Alkohol, falls solcher in größeren Mengen vorhanden ist, selbst bei überreichlichem Bestande des Körpers an Kohlenhydrat, sofort zur Verbrennung gelangt, also in die Oxydationsprozesse, die dem Körper Energie liefern, einbezogen wird, so ist damit noch nicht gesagt, ob durch den Alkohol tatsächlich Calorien, die der Körper sonst unter Abbau anderer Nahrungsstoffe produzieren müßte, nutzbringend dem Körper zugute gekommen sind, d. h. ob der Körper die erwiesene, neben der Kohlenhydratverbrennung eingeleitete Alkoholverbrennung auch energetisch auszunützen vermochte. Eine Sparwirkung als solche ist ja durch die Hintanhaltung der Verbrennung von Kohlenhydrat allein, wenn auch wahrscheinlich gemacht, so doch nicht sicher erwiesen, da ja immerhin neben der Alkoholverbrennung noch ein Mehraufwand bestehen könnte, der die Sparwirkung des Alkohols ganz oder teilweise illusorisch machen würde. Ferner muß erst erwiesen werden, daß das Sinken des respiratorischen Quotienten nicht etwa dadurch zustande gekommen ist, daß neben einem unveränderten, den Normalzuckerversuchen analogen Verlauf der Zuckerverbrennung so viel Alkohol verbrannte, daß hierdurch der respiratorische Quotient herabgedrückt wurde.

Auch hier soll vorerst die Diskussion umgangen werden und an deren Stelle der erhobene Befund treten.

Wenn der Alkohol keine kohlenhydratsparende Wirkung entfaltet hätte, also unnütz verbrannt wäre und nur zur Erniedrigung der Quotienten geführt hätte unter unverändert fortbestehender Zuckerverbrennung, so hätte die Energieproduktion im Alkoholversuch um den Betrag an Calorien höher sein müssen, den der verbrannte Alkohol lieferte. Angenommen, es wären bei einem Umsatz von 1,2 Cal. pro Minute im Mittel, bei ausschließlicher Zuckerverbrennung 0,3 g Zucker pro Minute verbrannt zu einer Zeit, in der der respiratorische Quotient im Zuckerversuche „Eins“ war, so hätte ein Sinken auf einen Wert von 0,77 Cal. (vgl. Versuch 142) bei unveränderter Kohlenhydratverbrennung nur dadurch zustande kommen können, daß pro Minute um 526 ccm mehr Sauerstoff, und zwar für Alkohol-

verbrennung, verbraucht worden wären[1]) und hierbei 2,5 Cal. mehr produziert werden und 0,36 g Alkohol pro Minute verbrannt sein müßte. Der Energieverbrauch wäre demnach pro Minute auf das Dreifache gestiegen. Es zeigte sich aber, daß die Werte für den Energieverbrauch der Versuchsperson in den Zuckerversuchen mit oder ohne Alkoholbeigabe gut übereinstimmen.

Tabelle XI.

Umsatz in Calorien pro Minute.

Zeit nach d. Zufuhr des Zuckers	17. I. Nr. 23—36	23. I. Nr. 51—62	21. III. Nr. 120—125	1. IV. Nr. 136—147	3. IV. Nr. 148—156	Bemerkungen
	Dextrose	Dextrose Alkohol	Lävulose	Lävulose Alkohol	Lävulose Opium	
	1,114	1,058	1,058	1,072	1,093	Vorversuch
10′	1,151	1,073	—	1,155	—	Dextrose- bzw. Lävulosezufuhr
15′	—	—	—	—	—	
30′	1,218	—	1,228	1,129	1,074	
45′	1,269	—	1,180	Alkohol	1,248	
50′	—	—	**	1,191	—	
1h 00′	1,229	1,197	—	—	—	
1h 05′	—	—	—	1,180	—	
1h 15′	1,333	—	1,156	**	1,157	
1h 20′	—	—	—	1,283	**	** Lävulosezufuhr
1h 30′	1,234	1,178	—	—	—	
1h 35′	—	—	—	1;285	—	
1h 42′	—	Alkohol	—	—	—	
1h 45′	1,184	1,209	—	—	1,107	
2h 00′	1,170	1,274	1,267	—	—	
2h 05′	—	—	**	1,232	—	
2h 15′	—	1,200	—	**	1,195	do.
2h 20′	1,176	—	—	1,168	**	
2h 30′	—	1,169	—	—	—	
2h 40′	1,055	—	—	1,265	1,143	
2h 45′	—	1,130	—	—	—	
3h 00′	1,108	1,095	1,254	1,215	—	
3h 15′	—	—	—	—	—	
3h 20′	—	1,057	—	—	—	
3h 30′	1,149	—	—	—	1,075	
3h 45′	—	1,149*	—	—	—	* 3h 40′ nach der Zuckerzufuhr
4h 00′	1,073	1,049	—	—	1,086	

[1]) Im Versuch 122 ist der respiratorische Quotient 0,997 bei 238,1 CO_2-Produktion und 238,9 O_2-Verbrauch, im Versuch 142 R.Q. = 0,770. Bezeichnet man mit x die CO_2-Produktion der Alkoholverbrennung entsprechend, mit y den O_2-Verbrauch der Alkoholverbrennung entsprechend, die hätte stattfinden müssen, um den R.Q. von 0,997 auf 0,770 bei unveränderter Kohlenhydratverbrennung zu drücken, so ergibt sich

$$\frac{238{,}1 + x}{238{,}9 + y} = 0{,}77\,; \quad \frac{x}{y} = 0{,}667 \text{ und hieraus } y = 526 \text{ ccm } O_2.$$

Die vorstehende Tabelle enthält diese Werte pro Minute in Calorien ausgedrückt. Als Beispiel sind nur einige Versuche herausgegriffen, und zwar sowohl ein Dextrose- und Dextrose-Alkohol-Versuch wie ein Lävulose- und Lävulose-Alkohol-Versuch; angeführt wurde ferner der Lävulose-Opium-Versuch, von dem später die Rede sein wird.

Die Energieproduktion wurde dabei in folgender Weise berechnet: In den Versuchen mit Zucker allein konnte nach dem üblichen Vorgange vorgegangen werden, nur berechneten wir den auf den Eiweißstoffwechsel entfallenden Anteil, um Einwänden, die weiter unten angeführt werden sollen, zu entgehen, obwohl die besondere Berücksichtigung des Eiweißes ganz belanglos ist. Es wurde daher die Stickstoffausscheidung der Versuchsperson ermittelt und das dieser entsprechende Minutenvolumen des Sauerstoffes und der Kohlensäure in Abzug gebracht. Aus dem Rest von Sauerstoff und Kohlensäure wurde der respiratorische Quotient der Fett- und Kohlenhydratverbrennung ermittelt und daraus der auf beide Stoffe entfallende Anteil der Energieproduktion berechnet. Dazu wurde der auf die Eiweißverbrennung entfallende Betrag addiert.

In ganz analoger Weise rechneten wir bei den Zucker-Alkohol-Versuchen, nur haben wir dabei die Voraussetzung zugrunde gelegt, in diesen sei in jener Zeitperiode, die uns interessierte, nur Eiweiß, Zucker und Alkohol verbrannt worden, ausgehend von der Anschauung, daß wir ohne Alkohol respiratorische Quotienten um „Eins" gefunden haben würden, die während so intensiver Zuckerverbrennung zur Annahme berechtigen, daß außer dem Abnützungsstoffwechsel der Zellen zu dieser Zeit der Umsatz im Hauptwesen aus Kohlenhydratverbrennung ev. Kohlenhydratverbrennung neben Fettansatz aus Kohlenhydrat besteht.

Wir sind uns der Einwände, die gegen diese Art der Berechnung erhoben werden können, voll bewußt und werden diese gemeinsam im folgenden zu besprechen haben, um die Beeinflussung zu kennzeichnen, die durch gleichzeitige Berücksichtigung der Fettverbrennung auf die Zahlenwerte für den Umsatz entstehen würde. Es wird sich zeigen lassen, daß — mögen wir rechnen wie wir wollen und mögen wir sogar extremste Annahmen zuungunsten der Alkoholverwertung machen — an dem Resultate nichts geändert wird.

Ein Beispiel soll die Art der Berechnung dartun. Im Versuche vom 23. I. betrug 2 Stunden nach der Dextrosezufuhr das Minutenvolumen der Kohlensäure 233,8 ccm, jenes des Sauerstoffs 259,4 ccm. Für die dem Milligramm Harnstickstoff entsprechende Menge umgesetzten und abgebauten Eiweißes haben wir 27,14 cal. einzusetzen[1]), ferner entspricht im Gaswechsel dem Eiweißabbau pro Milligramm N im Harn ein Wert von 60,643 ccm O_2 und 48,098 ccm CO_2, somit im vorliegenden Falle eine Produktion von 35,23 ccm CO_2 pro Minute und ein Verbrauch von 44,42 ccm O_2 pro Minute bzw. eine Menge von 198,77 cal., stammend aus der Eiweißverbrennung. Im Harne hatten sich nämlich gefunden 10,547 g N pro Tag, somit 7,324 mg N, aufgeteilt auf die Minute.

Es entfallen daher auf die Fett-, Kohlenhydrat- und Alkoholberechnung abzüglich der Werte für die Eiweißverbrennung 233,8 — 35,2 = 198,6 ccm CO_2-Produktion und 259,4 — 44,4 = 215,0 ccm O_2-Verbrauch, also ein respiratorischer Quotient von 0,9237. Diesem entspricht unter der Annahme, daß nach der Alkoholzufuhr außer Eiweiß nur Kohlenhydrat und Alkohol, nicht aber Fett verbrannt wurde, als calorischer Wert des Sauerstoffes 4,999 Cal.

Da wir aus der Wechselbeziehung zwischen Kohlenhydratverbrennung und Fettverbrennung wissen, daß nach Verbrauch des Kohlenhydrats die vorher durch Kohlenhydratverbrennung gelieferten Calorien durch die Oxydation zum Fett geliefert werden, so daß der R. Q. auf den Wert für reine Fettverbrennung absinkt, dagegen dann, wenn großer Überschuß an Kohlenhydrat vorhanden ist, der Quotient auf 1 steigt als Ausdruck dessen, daß nunmehr die Fettverbrennung ausgeschaltet wurde, so könnte das Sinken des im Zuckerversuch hochgetriebenen Quotienten nach Alkoholdarreichung nur unter künstlichem Zwang auf nunmehr einsetzende teilweise Fettverbrennung bezogen werden, während die erwiesene, während dieser Zeit sich abspielende Alkoholverbrennung an und für sich den Quotienten drücken muß, und unter allen Umständen, selbst wenn wir nebenher laufende Fettverbrennung annehmen wollten, ausschlaggebend für die Erniedrigung der Quotienten sein muß.

Folgen wir der Berechnung weiter. 0,215 × 4,999 = 1,075 Cal. Dazu kommen die der Eiweißverbrennung entsprechenden Calorien, die sich auf Grund der Stickstoffausscheidung berechneten mit 27,14 Cal. pro Gramm. Somit 1,0750 + 0,1988 = 1,2738 Cal.

Bekanntermaßen ist es für die Berechnung der gewöhnlichen Respirationsversuche bei mittleren respiratorischen Quotienten, die nicht allzusehr über 0,85 liegen, ziemlich gleichgültig, ob wir den respiratorischen Quotienten so verwerten, als wäre nur Fett und Kohlenhydrat verbrannt, da wegen der Höhe des Quotienten, der der Eiweißverbrennung entspricht, und wegen des calorischen Wertes des Sauerstoffs für Eiweißverbrennung die Ausschläge so gering sind, daß es ganz einerlei ist, ob wir unter besonderer Berücksichtigung des Eiweißabbaus rechnen

[1]) Vgl. Zuntz, Arch. f. d. ges. Physiol. 68, 204.

oder nicht, worauf Magnus-Levy bereits in v. Noordens Handbuch[1]) hingewiesen hat. Dies bestätigt sich auch in unserem Falle.

Es ergibt sich in Versuch 23 vom 17. I., daß bei der üblichen Berechnung der calorische Wert des Sauerstoffs entsprechend dem R. Q. 0,835 pro Liter mit 4,844 Cal. somit bei 232,9 ccm O_2-Verbrauch pro Minute der Gesamtumsatz mit 1,128 Cal. berechnet wird, während sich der Wert mit Berücksichtigung der N-Ausscheidung durch den Harn nach obiger Art der Berechnung auf 1,114 Cal., also um etwa 1% ändert, was noch vollständig in die Fehlergrenzen und die physiologischen Schwankungen fällt, um so mehr, als ja auch die Annahme eine willkürliche ist, daß die N-Ausscheidung im Laufe des Tages ganz gleichmäßig verlaufen ist und daß pro Minute wirklich ein genau aliquoter Teil Eiweiß verbrannt wurde. Hier hätten wir also ganz unbekümmert mit den üblichen Tabellen allein rechnen können. Selbst im Versuch 120 vom 31. III., in dem der Quotient 0,903 lautet, beträgt der Unterschied, der sich aus beiden Arten der Berechnung ergibt, nur 1,05 gegen 1,07 Cal. pro Minute.

Die obige Tabelle ergibt, daß immer im Gefolge der Zuckerzufuhr eine Umsatzsteigerung auftrat, und zwar sowohl nach Zufuhr von Traubenzucker, wie nach Zufuhr von Lävulose. Diese Umsatzsteigerung blieb auch nach Zufuhr von Alkohol erhalten, obwohl zur Zeit der Alkoholverbrennung sicher weniger Kohlenhydrat verbrannt wurde, als in den Versuchen ohne Alkohol.

Vergleicht man die Höhe des Umsatzes in den einzelnen Beobachtungen, die aus gleichen Phasen der Versuchsserien stammen, so ergibt sich in voller Eindeutigkeit, daß die Umsätze in den Alkoholversuchen vollkommen jenen in den übrigen Versuchen entsprechen, es ist weder eine Steigerung vorhanden, die auf eine nutzlose Verbrennung des Alkohols auch nur im entferntesten hindeuten würde, noch ein Sinken des Verbrauchs, das die oft herbeigezogene Hypothese einer Verminderung der Verbrennung durch die narkotische Wirkung des Alkohols stützen würde. Die Werte schwanken in den Zucker-Alkohol-Versuchen um dieselben Beträge, wie in den Dextrose-Lävulose-Versuchen. Als Mittel des Energieverbrauchs in den Versuchen nach Alkoholzufuhr und ohne diese ergeben sich für dasselbe vergleichbare Zeitintervall in Calorien pro Minute:

Dextrose:	Dextrose-Alkohol:
1,131	1,148

Lävulose:	Lävulose-Alkohol:	Lävulose-Opium:
1,226	1,227	1,127

[1]) I, S. 222.

Im Lävuloseversuch ist der Umsatz etwas mehr gesteigert als im Dextroseversuch, möglicherweise durch Auslösung intensiverer Darmperistaltik, die ja auch in dem Auftreten von Diarrhöen bei Verabreichung von 100 g Lävulose auf einmal, zum Ausdruck gekommen ist. Im Lävulose-Opium-Versuch, in dem der Darm ruhig gestellt wurde, ist diese Steigerung weggefallen und es decken sich die Werte somit gut mit jenen aus dem Dextroseversuch.

Lävulose-, Dextrose- bzw. die zugehörigen Alkoholversuche unter sich, können wohl selbst bei größter Skepsis nicht anders als identisch bezeichnet werden. Ja, in der so vorzüglichen Übereinstimmung kann sogar, abgesehen von der weiteren Diskussion, gerade ein Beweis dafür erblickt werden, daß das angewandte Rechenverfahren mit den Voraussetzungen, die wir dabei machten, vollkommen berechtigt ist.

Wir können daher aus den Versuchen mit voller Bestimmtheit folgern, daß in diesen zur Zeit der Überschwemmung des Körpers mit Kohlenhydrat Alkohol verbrannt wurde und Alkohol das Kohlenhydrat aus den Verbrennungsprozessen verdrängt hat, ferner, daß der verbrannte Alkohol mit seinem vollen Brennwert an Stelle der Kohlenhydratcalorien eingetreten ist, daher weder nutzlos verbrannte noch zu einer Verminderung der Oxydationsprozesse Anlaß gab.

Würde die durch viele Versuche, so insbesondere durch die Versuche von Atwater und Benedict gefestigte Tatsache, daß Alkohol im Stoffwechselversuch bei der Berechnung der Energiezufuhr mit seinem vollen Brennwert[1]) in Anschlag gebracht werden muß, noch einer Stütze bedürfen, so liefern die voranstehenden Resultate ein neues Beweisglied. Da Kohlenhydrat — wenn nicht übermäßige Eiweißmengen eliminiert werden sollen — und reichliche Mengen hiervon vorhanden sind, im allgemeinen am ersten und am leichtesten angegriffen wird, so besagt die Tatsache, daß der Alkohol sofort Kohlenhydrat sparend verbrannt wird, daß dieser indirekt genau so als Fett- oder Eiweißsparer wirken muß wie Kohlenhydrat, da

[1]) Hierbei ist abgesehen von den Verlusten durch die Atmung und den Harn, deren Größe durch Atwater-Benedict, sowie Völtz und dessen Mitarbeiter festgelegt wurde.

ja die Sparwirkung des erübrigten, nicht verbrauchten Kohlenhydratbestandes sich gegenüber Fett und Eiweiß geltend macht. Insbesonders die Versuche am Diabetiker, dem die Fähigkeit zur Verwertung der Kohlenhydrate fehlt und dem auch mit einer Ersparnis an Kohlenhydrat nicht gedient wäre, sprechen aber auch dafür, daß Alkohol direkt — nicht nur auf dem Umwege über das Kohlenhydrat — Fett zu sparen vermag. Indirekt ergibt sich weiter der Schluß vollkommener Verwertung des Alkohols bei der Muskelarbeit, ein Schluß, den wir noch durch experimentelle Beiträge weiter zu stützen beabsichtigen.

Diskussion.

In der folgenden Diskussion soll besprochen werden, ob die Einwände, die gegen die Art der Berechnung der Resultate und gegen die Versuchsergebnisse erhoben werden können, an den gezogenen Schlüssen etwas zu ändern vermögen.

1. Ein geläufiger Vorwurf, der immer wieder bei Versuchen über die Wirkung von Alkohol erhoben wurde, ist der, daß der Alkohol zu einer Verminderung des Stoffumsatzes infolge seiner toxisch lähmenden Wirkung geführt habe, und daß das Konstantbleiben des Verbrauches nur darauf zurückzuführen sei, daß der geschädigte Körper weniger Nahrungsstoffe verbrannt habe, dabei aber den Alkohol oxydiert, um die aus diesem stammende Energie zu verwerten. Nach dieser Auffassung würde durch das Sinken des Stoffwechsels nur der Schein vorgetäuscht werden, als ob die Alkoholcalorien verwertet werden könnten.

Diese Anschauung rührt offenkundig von zu geringer Kenntnis der experimentellen Methodik und der vorliegenden Literatur her. Durch die Versuche von A. Loewy[1]) wurde nämlich erwiesen, daß Narkotica einen Einfluß auf den Umsatz im Menschen nicht auszuüben vermögen, auch wissen wir, daß dann, wenn dafür gesorgt ist, daß der Tierkörper vor Wärmeverlust geschützt wird, selbst am curaresierten Tiere abzüglich der Werte für die Atemarbeit der normale Erhaltungsumsatz gefunden wird, der einen ganz außerordentlich konstanten Wert vorstellt.

---

[1]) Loewy, Berliner klin. Wochenschr. 1891.

Es ist selbstverständlich, daß man dann, wenn man an Tieren arbeitet, die man nicht zu selbstgewollter, absoluter Bewegungslosigkeit und Entspannung der Muskulatur veranlassen kann wie den denkenden Menschen, der mit dem Zwecke des Versuches vertraut ist, andere Resultate erhält, wenn das Tier viel Alkohol oder eine hinreichende Dosis eines Narkoticums bekommen hat. Der bewegungslos liegende Mensch weist genau denselben Erhaltungsumsatz auf wie der schlafende oder narkotisierte. Nicht aber das Tier. Bei diesem fallen in Narkose die Muskelspannungen und Muskelbewegungen fort, so daß es nicht wundernehmen kann, daß zwischen dem narkotisierten und dem normalen Tier bis zu 60 % Unterschied im Umsatz gefunden werden. Wird ein Hund, der vorher mehr oder weniger unruhig war, betäubt und „ruhiger“ gemacht, so sinkt sein Umsatz durch den Wegfall der Arbeitsleistung, ebenso wird der Umsatz für den gleichen Effekt steigen, wenn man einen Hund unter Mehraufwand von Muskelarbeit betrunken auf der Tretbahn zum Laufen zwingt. Derartige Versuche taugen zur Entscheidung über die in Rede stehende Frage ebensowenig wie Versuche über die Beeinflussung des Erhaltungsumsatzes an Menschen, die nicht bei vollkommener Bewegungslosigkeit ausgeführt worden sind.

Wäre es daher auch nicht notwendig gewesen, nochmals der schon etwas abgetragenen Narkosehypothese entgegenzutreten, so schien es doch gerade bei unserer Versuchsanstellung zweckmäßig, parallel mit den Alkoholversuchen festzustellen, ob nicht vielleicht doch das Eintreten der Kohlenhydratverbrennung bei überreichlicher Kohlenhydratzufuhr durch ein Narkoticum gehemmt werden könne.

Wir verabreichten daher unserer Versuchsperson gleichzeitig mit der Lävulose 20 Tropfen Opiumtinktur entsprechend 0,01 g Morphin, also unzweifelhaft ein viel narkotischer wirkendes Quantum als die 30 ccm Alkohol, an die die Versuchsperson ziemlich gewöhnt war. Nachfolgende Tabelle gibt die Werte wieder.

Gegeben wurden 30 g Lävulose, und zwar gleichzeitig mit dem Opium. Wie wir schon oben S. 330 erwähnt haben, wurde der Umsatz nicht wesentlich verändert, er lag ein klein wenig niedriger, wie auch die Ventilationssteigerung eine geringere war. Die Ursache hierfür kann nun, wie oben erwähnt, darin beruhen, daß durch das Opium die im Gefolge

Tabelle XII.

Versuch N vom 3. IV. mit Lävulose und Opium.

Nr.	Zufuhr	Zeit	Minutenvolumen beob. Liter	Minutenvolumen reduz. Liter	CO_2 %	O_2 %	R. Q.	pro Minute CO_2 ccm	pro Minute O_2 ccm	Veränderung gegen den Normalversuch Vol. Liter	Veränderung gegen den Normalversuch CO_2 ccm	Veränderung gegen den Normalversuch O_2 ccm
N 148		0′	7,20	6,41	2,96	3,50	0,829	189,8	228,9	—	—	—
	30 g Lävulose 20 Tropfen Opiumtinktur											
149	↓ ↓	30′	7,23	6,43	3,41	3,74	0,922	219,3	240,5	+ 0,03	+ 29,5	+ 11,6
150		45′	7,09	6,30	3,19	3,30	0,967	201,0	207,9	− 0,11	+ 11,2	− 21,0
151		1h 15′	7,09	6,30	3,29	3,67	0,897	207,5	226,8	− 0,11	+ 17,7	− 2,1
	30 g Lävulose											
152	↓ ↓	1h 45′	7,64	6,79	3,17	3,39	0,935	215,1	230,0	+ 0,44	+ 25,3	+ 1,1
153		2h 15′	7,82	6,94	3,25	3,52	0,923	225,7	244,4	+ 0,62	+ 35,9	+ 15,5
	30 g Lävulose											
154		2h 45′	7,85	6,97	3,19	3,32	0,961	222,4	231,4	+ 0,65	+ 32,6	+ 2,5
155		3h 30′	7,49	6,65	3,04	3,29	0,924	202,1	218,4	+ 0,29	+ 12,3	− 10,2
156		4h 00′	7,37	6,54	2,99	3,43	0,958	195,5	225,3	+ 0,17	+ 5,7	− 3,6

der Lävulosezufuhr beobachtete lebhafte Darmperistaltik (die wir durch das Opium ja gerade ausschalten wollten) gehemmt wurde, möglicherweise ist aber daran die geringere Steigerung der Atemgröße schuld, die während des Versuches eintrat, da die Ventilation schon im Ruhevorversuche bei der Opiumreihe 7,20 l gegen 6,00 l im Vorversuch bei der Lävulose-Alkoholreihe betrug[1]). Die Werte für den Sauerstoffverbrauch decken sich aber in den Lävulose-Normalversuchen ganz mit jenen in den Lävulose-Opium-Versuchen, da sich in ersteren zusammengenommen der Mittelwert 229 ccm O_2 pro Minute ergibt, genau so wie im Opiumversuch, in dem man auch zu 229 ccm Mittelwert gelangt, so daß von einer den Stoffumsatz vermindernden Wirkung des Opiums keine Rede ist. Über den Verlauf der Zuckerverbrennung gibt die

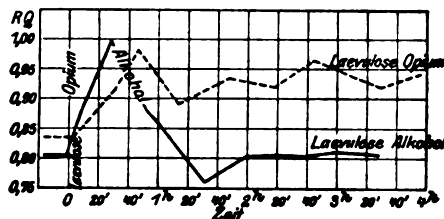


Fig. 9. Versuch N vom 3. IV. Lävulose und Opium. Versuch M vom 1. IV. Lävulose und Alkohol. Werte der respiratorischen Quotienten.

[1]) Bezieht man die Ventilation im Opiumversuch auf die sonstige Größe des Minutenvolumens in den Normalversuchen, so fällt die Ventilationssteigerung gerade so aus wie in den übrigen Versuchen.

vorstehend abgebildete Kurve Aufschluß, in der die respiratorischen Quotienten aus dem Opiumversuch in Parallele gestellt sind mit dem Quotienten von Versuch M, in dem anstatt des Opiums Alkohol gegeben wurde. Der erste Blick zeigt wohl, daß der Unterschied zwischen beiden Kurven ein ganz prinzipieller ist.

Man sieht, wie trotz 3×30 g Lävulose durch den Alkohol der Wert des Quotienten sofort unter den Anfangswert gedrückt wurde, während trotz der Opiumgabe, die zugleich mit der Lävulosegabe erfolgte, der Quotient fast auf die Höhe von 1 anstieg (0,967) und mit geringen Schwankungen dauernd hoch blieb. Auch nach 3 Stunden 40 Minuten liegt der Quotient noch bei 0,958, und zwar höher als z. B. zur selben Zeit in den Versuchen G und H, was dafür spricht, daß jetzt Kohlenhydrat zur Verbrennung gelangte, das in den genannten Versuchen bereits verbraucht war, daß also unter der Opiumwirkung die Lävulose langsamer zur Resorption gelangte. Die Figur zeigt, daß der Verlauf der Lävulosekurve insoferne jenem der Dextrosekurve ähnlicher geworden ist, als der Anstieg des Quotienten langsamer erfolgte, was ebenfalls im Sinne verlangsamter Resorption spricht.

Dieses Ergebnis, daß durch Opium keine als Narkosewirkung zu deutende Verminderung des Umsatzes eintrat, steht in voller Übereinstimmung mit den Versuchen über die Wirkung des Alkohols auf den Umsatz. Weder Geppert[1]) noch Zuntz und Berdez[2]) konnten eine solche beobachten; im Gegenteil fand sich in ihren Beobachtungen eher eine geringe Steigerung des Umsatzes als eine Verminderung.

Bezüglich der stoffwechselherabsetzenden Wirkung des Alkohols kommen wir also zu dem Resultate, daß Alkohol ebensowenig wie Opium den Erhaltungsumsatz vermindert, daß also keine Rede davon sein kann, daß etwa die Konstanz des Stoffumsatzes, die wir im Alkoholversuch fanden, erklärt werden könne durch die Superposition zweckloser Alkoholverbrennung auf einen verminderten Erhaltungsstoffwechsel (Grundumsatz). Im übrigen kann in bezug auf die Diskussion über diese Frage auf die vorzügliche Zusammenfassung Rosemanns verwiesen werden.

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. 22, 367.

[2]) Rosemann, Oppenheimers Handb.

2. Wir wollen uns nun noch der Frage der Berechnung des Energieumsatzes zuwenden. Es kann eingewendet werden daß die Umsatzberechnung darum nicht einwandfrei sei, weil wir auch während der Zucker- und während der Zucker- und Alkoholverbrennung ein gleichmäßiges Fortbestehen der Eiweißverbrennung angenommen und in Rechnung gestellt haben, da zu einer Zeit so exquisiter Bevorzugung der Kohlenhydratverbrennung möglicherweise Eiweiß überhaupt nicht verbrannt worden sei. Der Gegensatz hierzu wäre die Annahme, daß gerade während der Alkoholverbrennung viel mehr Eiweiß zerfallen sei, da vielfach im Gefolge von Alkoholzufuhr beim Ungewöhnten gesteigerter Eiweißzerfall eintritt.

Daß während der Zuckerperioden nicht nur Fett gespart, sondern auch der Eiweißabbau ganz sistiert worden sei, ist zum mindesten recht unwahrscheinlich, denn der Abnutzungsstoffwechsel der Zellen geht unter allen Umständen, so lange sie leben, ihren Weg, worauf ja schon das Stickstoffminimum hinweist. Mindestens hätten wir den diesem entsprechenden Eiweißumsatz einzusetzen. Eine Verschiebung im Eiweißabbau ist aber, wie aus den bereits obenerwähnten Überlegungen, wie auch aus jenen von Johanssen[1]) hervorgeht, von ganz nebensächlichem Einfluß, bei der Berechnung des Energieumsatzes über den respiratorischen Quotienten. Hätten wir zu viel an Sauerstoff für die Eiweißverbrennung in Rechnung gestellt, so würde, da der calorische Wert des Sauerstoffes für die Kohlenhydratverbrennung höher liegt als jener für die Eiweißverbrennung, der Umsatz im Zuckerversuch um etwas größer ausgefallen sein, somit aus der Berechnung jedenfalls eher das Gegenteil folgen, als die Annahme, daß die Alkoholcalorien nutzlos verbrannt worden seien. Ähnlich liegt es mit der Annahme gesteigerten Eiweißzerfalles im Alkoholversuch; sollte ein solcher stattgefunden haben, wäre mehr O_2 für die Eiweißverbrennung in Abzug zu bringen gewesen und das Sinken des Quotienten mehr durch Eiweiß-, weniger durch Alkoholverbrennung be, dingt gewesen. In der Rechnung hätte dieses eine ganz unwesentliche Verminderung des Umsatzes im Alkoholversuch herbeigeführt, also wiederum das Gegenteil von dem, was ge-

[1]) Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. III, 12, 1127 u. ff.

fordert werden müßte, wenn der Alkohol nutzlos verbrannt sein sollte.

Nehmen wir als Beispiel Versuch 31 von dem Dextroseversuch am 17. I. und Versuch 56 vom Dextrose-Alkoholversuch am 23. I., so ergibt sich

	unter Berücksichtigung der Eiweißverbrennung	unter Ausschluß der Eiweißverbrennung
a) Dextrose	1,17 Cal.	1,19 Cal.

	unter Berücksichtigung der Eiweißverbrennung	unter Annahme doppelt so großer Eiweißverbrennung
b) Dextrose-Alkohol	1,27 Cal.[1])	1,25 Cal.

Das Beispiel lehrt, daß auch unter extremer Verschiebung der Eiweißverbrennungssteigerung auf das Doppelte im Alkoholversuch, vollkommene Außerachtlassung im Dextrose-Alkoholversuch keinerlei Verschiebung in den Werten eintritt, die irgendwie von Belang sind.

3. Ein weiterer Einwand kann die Beurteilung der Fettverbrennung betreffen. Man könnte einwenden, es sei vielleicht das Sinken des respiratorischen Quotienten nach Alkoholzufuhr durch Fettverbrennung bedingt gewesen. Dabei würde natürlich sofort die Frage entstehen, was dann aus dem Alkohol geworden ist, da wir aus einer Summe von Versuchen wissen, daß ja nur ein ganz geringfügiger Teil des Alkohols unverbrannt den Körper durch Ausatmungsluft und Harn verläßt. Der calorische Wert des Liters Sauerstoff ist bei der Fettverbrennung 4,686 Cal., jener bei der Alkoholverbrennung 4,843 Cal., während die respiratorischen Quotienten bei Fettverbrennung 0,707 Cal., bei Alkoholverbrennung 0,667 Cal. lauten, woraus sich sofort ergibt, daß dann, wenn wir der Fettverbrennung irgendeinen größeren Teil des Sauerstoffverbrauches zuschieben wollten, entweder neben dem Alkohol mehr Fett verbrannt worden wäre, oder daß das Fett einen Teil jenes Sauerstoffes zur Oxydation verbraucht hätte, den wir auf Alkoholverbrennung bezogen hatten. Erstere Möglichkeit ist ebenso glatt von der Hand zu weisen wie die Annahme nutzloser Ver-

[1]) Die Werte von a) und b) sind untereinander in bezug auf den Energieverbrauch nicht direkt zu vergleichen, da der Verlauf der Umsatzsteigerung im Versuch mit und ohne Alkoholzufuhr sich zeitlich nicht vollkommen deckt.

brennung von Alkohol neben Kohlenhydrat. Denn wäre mehr Fett nebenher verbrannt oder der Alkohol neben dem Fett verbrannt, das wir hypothetisch als verbraucht annehmen müßten, würden die Quotienten tiefer gesunken sein oder der Umsatz entsprechend bedeutend gestiegen sein, was den Tatsachen widerspricht.

Es erübrigt also nur die erstere Eventualität, daß weniger Alkohol und an dessen Stelle unter der Alkoholwirkung mehr Fett verbrannt sei. Daß diese Annahme zum mindesten recht gekünstelt ist, versteht sich von selbst; das bisher verbrennliche Kohlenhydrat würde gespart werden, Alkohol, der noch leichter verbrennlich ist, ebenfalls in geringerer Menge oxydiert werden und an dessen Stelle Fett verbrennen, das neben Kohlenhydrat ohne Alkohol nicht verbrannt wäre. Doch angenommen, es sei so. So würde aus der Überlegung folgen, daß in den Lävuloseversuchen, in denen wie die Werte der Quotienten über 1 besagen, Fettbildung aus Kohlenhydrat stattfand, im Alkoholversuch beim Vorhandensein von mehr und leichter oxydablem Nährmaterial nicht Fett gebildet, sondern direkt zerstört worden sei, zudem würde der Körper den Alkohol, der für ihn Gift ist, durch eine derartig unzweckmäßige Verschiebung des Stoffwechsels nur zu längerem Verweilen im Körper bringen.

Es könnte aber Fettbildung neben Alkoholverbrennung stattfinden, dann wären unsere Quotienten im Alkoholversuch insofern von uns zu hoch bewertet worden, als der Alkohol bei seiner Verbrennung zu einem viel niedrigeren Quotienten Anlaß gegeben hätte, dieser wäre aber durch die gleichzeitige Fettbildung höher gerückt worden. Es wäre mit anderen Worten Alkohol mit Hilfe jenes Sauerstoffes verbrannt worden, der bei der Umwandlung von Kohlenhydrat in Fett frei gemacht wurde.

Doch auch dabei gelangen wir zu keinem wesentlich anderen Resultat in bezug auf den calorischen Umsatz, obwohl wir dabei den Alkohol nur als Fettsparmittel anstatt als Kohlenhydratsparmittel deklarieren.

Wir haben jedenfalls die Energieproduktion in jenen Versuchen über Dextroseverbrennung zu niedrig eingesetzt, in denen die R. Q. über 1 lagen, da wir den Energieumsatz so berechneten, als hätten die Quotienten nur 1 gelautet. Viel macht dies in der Rechnung nicht aus, da wir ja pro 1 l CO_2, das nicht durch gleichzeitigen Sauerstoffverbrauch gedeckt ist, ein

Plus von 1,15 Cal. (bei Bildung von 1,694 Cal. zu Fett aus Kohlenhydrat) annehmen müßten. Im Dextroseversuch vom 17. I. beträgt der Unterschied 12 ccm entsprechend 0,013 Cal., die für unsere Berechnung gar nicht in Betracht kommen, beim Lävuloseversuch vom 21. III. würde der Ausschlag gar nur 0,0096 Cal. bedeuten. Dies ist also die Wirkung der Fettbildung, wie wir sie in unseren Zuckerversuchen beobachteten. Setzen wir aber nun auch ein Mehrfaches einer solchen Fettbildung in unsere Dextrose-Alkohol-Versuche ein, so gelangen wir immer noch zu keiner Veränderung des calorischen Umsatzes, der den Schluß auf nutzlose Alkoholverbrennung gestatten würde. Wir können dabei auch noch insofern zu unseren Ungunsten rechnen, als wir die Eiweißverbrennung nebenher unverändert weiter laufen lassen.

Greifen wir Versuch 56 heraus, in dem der Sauerstoffverbrauch 259,4 ccm, die CO_2-Produktion 233,8 ccm betrug. Es sei neben Alkohol-, Eiweiß- und Kohlenhydratverbrennung noch Fett aus Kohlenhydrat gebildet worden. Es hätte also die CO_2-Produktion den O_2-Verbrauch um 8,4 ccm[1]) überschritten und es sei durch ausgiebigere Alkoholverbrennung der Quotient so gedrückt worden, daß er den gefundenen Wert erreicht, so ergibt sich folgendes: Der Mehrproduktion von 8,1 ccm CO_2 entsprechen 0,01423 g Fettbildung pro Minute, bei einem Brennwert des Fettes von 9,5 Cal., demnach also ein Fettansatz von 0,1321 Cal. Da das Fett aus Fruchtzucker gebildet werden mußte, so wurden dafür mindestens 0,03495 g Fruchtzucker herangezogen.

34,95 mg Fruchtzucker enthalten .	13,98 mg C	18,83 mg O	2,38 mg H
14,23 mg Fett „ .	10,87 „ „	1,64 „ „	1,71 „ „
Es blieben daher als Folge der Umwandlung über	3,11 mg C	17,19 mg O	0,61 mg H
Diese erforderten zur Oxydation		8,29 mg O	4,880 mg H
Es blieben also übrig . .	17,19 — 8,29 — 4,88 = 5,02 mg O		

entsprechend 3,5 ccm O_2, diese vermochten Alkohol zu oxydieren und zwar 0,0025 g Alkohol mit 0,017 Cal. Hieraus er-

[1]) Siehe oben den Lävuloseversuch.

gibt sich wieder, daß wir ein Vielfaches solcher Fettbildung aus Kohlenhydrat neben der Alkoholverbrennung annehmen dürfen, ohne den calorischen Wert des Umsatzes nur einigermaßen in wesentlicher Weise zu verschieben.

Daß während der Fettbildung aus Kohlenhydrat gleichzeitig auch Fettabbau in namhaftem Umfang stattfindet, wird wohl niemandem einfallen, aber selbst wenn man annehmen wollte, daß Eiweißabbau, Kohlenhydratabbau, Fettaufbau, Fettabbau und Alkoholabbau nebeneinander verlaufen, kommen wir immer wieder zu einem calorischen Umsatz, der in gleicher Weise für die energetische Verwertung des Alkohols spricht. Da der calorische Wert des Sauerstoffes bei der Fettverbrennung nämlich niedriger als bei Alkohol-Eiweiß-Kohlenhydratverbrennung ist, so würden wir durch Einbezug von Fettverbrennung neben der Bildung den Umsatz nur niedriger statt höher finden, also abermals erwiesen sehen, daß der Alkohol ohne gleichzeitige Umsatzsteigerung verbrannt ist und andere Nahrungsmittel isodynam vertreten hat.

Schließlich sei noch die Frage erörtert, welchen Anteil die Alkoholverbrennung an der Energieproduktion genommen hat und wie die Alkoholverbrennung zeitlich verlaufen ist.

Die Antwort darauf können wir nur mit einiger Reserve geben, denn dazu müssen wir entweder voraussetzen, daß die N-Verbrennung unverändert weiterging oder daß sie ganz sistierte, und ferner, daß die Fettverbrennung neben der Alkoholverbrennung nicht in Frage kam. Berechnen wir die Größe der CO_2-Produktion und des Sauerstoffverbrauches nach Abzug der auf das Eiweiß entfallenden O_2- und CO_2-Mengen und verteilen wir den Rest auf Alkohol- und Kohlenhydratverbrennung, so ergibt sich folgende Überlegung.

Bezeichnen wir mit x die Anzahl Kubikzentimeter Sauerstoff, die für die Verbrennung des Zuckers pro Minute verbraucht wurden und mit y den auf die Oxydation des Alkohols entfallenden Anteil, bzw. mit CO_2 und O_2 die betreffenden Minutenvolumina, so ist:

$$x + y = O_2$$
$$x + 0{,}67\,y = CO_2$$

und

$$y = \frac{O_2 - CO_2}{0{,}33}$$

Multiplizieren wir diesen Wert mit dem calorischen Wert des O_2 für Alkoholverbrennung, so erhalten wir die aus dem Alkohol stammende Calorienmenge. Der Sauerstoffverbrauch beträgt z. B. im Versuche 113 am 18. III. 2 Stunden 5 Minuten nach der Zuckerzufuhr $y = \frac{216,6 - 191,5}{0,33} = 76,01$ ccm. Die aus Alkohol herrührende Calorienmenge ist daher $4,843 \times 76 = 368$ cal. Es verbrannten in der Minute 52 mg Alkohol. Wollten wir aber supponieren, daß auch nach der Alkoholzufuhr Fettbildung aus Zucker stattfände, so wäre dieser Wert, wie oben erwähnt, zu niedrig. Würde daher Alkohol nutzlos verbrennen, so müßte die Energieproduktion etwa um jene Beträge größer sein, die den Alkoholmengen entsprechen, die in nachstehender Tabelle angeführt sind.

Tabelle XII.

Datum	Milligramm Alkohol pro Minute									
	1h 45′	1h 55′	2h 05′	2h 20′	2h 30′	2h 45′	3h 00′	3h 20′	3h 40′	4h 00′
23. I.	80,60	—	77,0	55,7	69,3	70,0	64,5	85,7	69,4	71,8
18. III.	0,50	71,8	60,3	85,6	74,2	61,2	81,8	79,4	—	—
		1h 05′	1h 20′	1h 35′	2h 05′	2h 20′	2h 40′	3h 20′		
1. IV.	54,5	84,3	130,6	157,5	113,6	108,7	125,7	105,4	—	—

Im Mittel entspricht in den Versuchen vom 23. I. und 18. III. die so berechnete maximale Alkoholverbrennung rund 500 cal. pro Minute, im Versuche mit Lävulose vom 1. IV. nahezu 800 cal., also im ersten Falle etwas über 40 %, im letztern 60 bis 70 % des Energiebedarfes. Da die Alkoholmengen, die im Blute vorgefunden werden, in den ersten Stunden nach der Alkoholzufuhr am höchsten sind, und auch durch Völtz und seine Mitarbeiter erwiesen wurde, daß die Ausscheidung unverbrannten Alkohols am stärksten in den ersten 4 Stunden nach der Zufuhr stattfindet, was in vollkommener Übereinstimmung mit der Verschiebung der respiratorischen Quotienten in unseren Beobachtungen steht, so ergibt sich aus den recht willkürlichen, im allgemeinen ein Maximum von Alkoholverbrennung ergebenden Berechnungen in obiger Tabelle, daß nach 4 Stunden selbst unter den gegebenen Annahmen der Alkohol noch nicht annähernd vollständig verbrannt war. Bei 7 mg Alkoholverbrennung pro Minute würden in 1 Stunde 4,2 g Alkohol, in

4 Stunden erst 16,8 g Alkohol von 24 g zugeführtem Alkohol verbrannt worden sein. Es ist dabei zu bedenken, daß die Alkoholzufuhr nur sehr gering (das ist 0,43 ccm pro Kilogramm Körpergewicht) war[1]).

Es wäre noch die Umsatzsteigerung, die durch die Kohlenhydratzufuhr erzeugt wird, und trotz fehlender Kohlenhydratverbrennung nach Alkoholzufuhr unverändert fortbesteht, zu besprechen. Als nicht in den eigentlichen Rahmen dieser Untersuchung gehörig sei hinsichtlich dieser Zunahme der Verbrennungen auf die Arbeiten von Johansson und seinen Schülern, weiter auf die Diskussion zwischen Zuntz und Heilner, sowie auf die Versuche von Hári[2]) hingewiesen und ferner erwähnt, daß Lusk und Riche[3]) diese Erscheinung in neuerer Zeit durch Versuche am Hunde im Calorimeter genauer studiert haben und zu dem Resultat kamen, daß die Erscheinung auf eine Vermehrung der oxydierbaren Stoffe in den Zellen zurückzuführen sei. Ob hierfür die Erklärung von Wendts[4]) ausreicht, es sei dies „nichts weiter als eine auf relativ konstanten Aufsaugungsmöglichkeiten des Verdauungsapparates beruhende Luxusresorption, die daher immer mit demselben Werte (= spez. Wärmemehrung) die Regelungstätigkeit des Thesaurierungsstoffwechsels überschreitet", ist augenblicklich wohl nicht ganz zu entscheiden. Geht während der Alkoholzufuhr die Resorption des Zuckers unverändert weiter vor sich (denn eine Änderung im ungünstigen Sinne anzunehmen haben wir keinen Grund), so sind jene Mengen von Zucker, die den Regelungsstoffwechsel überschreiten, im Alkoholversuch viel größer, und zwar um jenen Betrag, den der Alkohol darstellt, der an Stelle des Kohlenhydrates verbrannt wurde, und für diesen müßte man eine entsprechende Mehrproduktion von Wärme verlangen, ebenso wie bei einer Erhöhung der Zuckerresorption, da der Erfolg in beiden Fällen ja hinsichtlich des Überschreitens der augenblicklichen Thesaurierungsmöglichkeit derselbe sein dürfte.

---

[1]) Auch Versuche von Kühn, Inaug.-Diss., Gießen 1912; zitiert nach Centralbl. f. Physiol. stimmen damit überein. Kühn fand, daß nach 6 Stunden beim Hunde, dem 8 bis 10 ccm Alkohol zugeführt wurden, noch beträchtliche Mengen von Alkohol im Blut und in den Geweben nachweisbar waren.

[2]) Diese Zeitschr. **44**, 66.

[3]) Journ. of Biol. Chem. **18**, 27.

[4]) Skand. Arch. **29**, 230 (Festschrift für Tigerstedt).

Noch ein Moment wäre hierbei zu erwähnen. In Versuch F vom 27. I. wurde der überschüssige Traubenzucker auf etwas geschmälerten Glykogenbestand gegeben. Die Leber war in diesem Falle etwas glykogenärmer, da die Versuchsperson trotz Einhaltung derselben überreichlichen Ernährung mit Kohlenhydrat am Vortage wie am Morgen des Versuchstages selbst reichliche Muskelbewegungen ausgeführt hatte; hier ist also viel mehr Zucker thesauriert worden, und weniger mußte als überschüssig zur baldigen Verbrennung gelangen, was tatsächlich auch geschehen ist, worauf die niedrigeren respiratorischen Quotienten hindeuten. Ganz analog jedoch unter höherem Glykogenbestand wurde der Versuch am 17. I. ausgeführt, hier war also viel überschüssiger und zu eliminierender Zucker. Folgende Kurven der respiratorischen Quotienten in den beiden Versuchen zeigen das Verhalten. Es wäre unter diesen Umständen zu erwarten gewesen, daß der Umsatz im Versuch am 17. I. höher gesteigert gewesen sein müßte als in jenem am 27. I., in dem jedenfalls weniger Zucker zur Verbrennung und mehr zur Thesaurierung gelangte. Die Verhältnisse liegen aber genau umgekehrt. Im letztgenannten Versuch wurden in den 10 nach der Zuckerdarreichung ausgeführten Versuchen 27,3 ccm CO_2 im Durchschnitt pro Minute mehr gebildet und 21,7 ccm O_2 mehr verbraucht als im Normalversuch. Im Versuch vom 17. I. bei hohem Glykogenbestand betrug die Kohlensäure-Mehrproduktion 24,4, der Sauerstoff-Mehrverbrauch gegenüber dem Normalversuch gar nur 11,3 ccm pro Minute[1]). Der Mehrverbrauch war also fast halb so gering als im Versuch, in dem es zur reichlichen Thesaurierung kam. Man könnte fast sagen, daß die Verhältnisse gewissermaßen ähnlich liegen wie

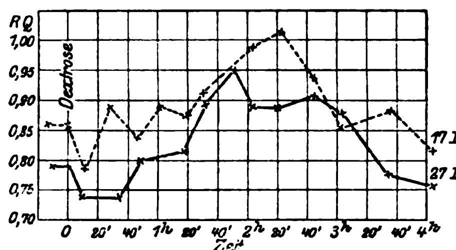


Fig. 10. 17. I. Dextroseverbrauch bei hohem und 27. I. Dextroseversuch bei erniedrigtem Glykogenbestand. Werte der respiratorischen Quotienten.

	CO_2	O_2
[1]) Summe im glykogenarmen Versuch . . .	355,4	281,8.
„ „ glykogenreichen „ . . .	316,9	147,4.

beim Versuch mit Alkohol und Zucker, bei dem noch mehr überschüssiger Zucker vorhanden war und doch keine Steigerung des Umsatzes eintrat. Es wird nicht ohne Bedeutung sein, diese Verhältnisse im Hinblick auf die so hochinteressanten Untersuchungen von Wendts über die energetische Verwertung der Nahrung weiter zu verfolgen.

Ergebnisse.

1. Nach der Zufuhr von 100 g Traubenzucker sank vorerst der respiratorische Quotient in den ersten Minuten ab, und zwar nicht infolge Verminderung der Kohlensäureproduktion, sondern infolge Vermehrung des Sauerstoffverbrauches.

2. Eine halbe Stunde nach der Zuckerzufuhr stieg der Quotient deutlich an bis zu einem Maximum, bei dem der Wert Eins erreicht oder überschritten wurde, das etwa 2 Stunden nach der Zuckerzufuhr auftrat.

3. Die Wirkung der Zuckerzufuhr war bei der reichlich mit Kohlenhydrat ernährten Versuchsperson nach ungefähr 4 Stunden nicht mehr erkennbar.

4. Wiederholte Zufuhr von 100 g Dextrose hatten bei der mit einem großen Überschuß von Kohlenhydraten ernährten Versuchsperson eine Verschiebung im Stoffwechsel zur Folge, in dem Sinne, daß mit der Zeit die Zuckergaben nur mehr eine geringe Steigerung des respiratorischen Quotienten zur Folge hatten. Der Zucker wurde zu dieser Zeit weder als Zucker verbrannt, noch als solcher ausgeschieden, noch im Blute kreisend gefunden. Eine mögliche Erklärung für das Verhalten kann durch Verschiebungen im intermediären Stoffwechsel gegeben werden.

5. Die Zufuhr von Dextrose führte zu einer Steigerung des Umsatzes und der Ventilation, zu Erscheinungen, die verschwanden, wenn der respiratorische Quotient wieder auf Normalwerte abgesunken war.

6. Gaben von 100 g Lävulose führten zu größeren Umsatzsteigerungen als die gleiche Menge Dextrose, was möglicherweise auf lebhaftere Darmarbeit zurückgeführt werden kann.

7. Die Lävulose wurde schneller zur Verbrennung herangezogen als die Dextrose, sie wurde in größerem Umfange verbrannt und ausgiebiger zur Fettbildung verwendet als die Dextrose.

8. Durch stündliche Gaben von 30 g Lävulose konnte der respiratorische Quotient durch lange Zeit auf dem Werte Eins erhalten werden.

9. Wurden bei dem mit Kohlenhydrat überernährten Menschen nach weiterer Zufuhr von 100 g Dextrose zur Zeit intensivster Zuckerverbrennung (gekennzeichnet durch das Auftreten hoher Quotienten) 30 ccm Alkohol gegeben, so stieg der respiratorische Quotient nicht weiter, sondern sank sofort ab, und zwar vielfach auf Werte, die niedriger waren als jene, die vor der Zuckerdarreichung beobachtet worden waren. Der Quotient blieb fortan niedrig. In dem 3 Minuten nach der Alkoholzufuhr begonnenen Versuch war bereits die Verdrängung der Kohlenhydratwirkung auf den Quotienten durch die Wirkung des Alkohols nachweisbar.

10. Wurden 100 g Dextrose und 30 ccm Alkohol zusammen unter sonst gleichen Bedingungen der Versuchsperson verabreicht, so stieg der respiratorische Quotient von allem Anfange an nicht zu höheren Werten auf, sondern sank und blieb dauernd niedrig.

11. In den Versuchen mit Alkohol- und Dextrosezufuhr lag der Quotient zu einer Zeit, zu der derselbe im Dextroseversuch bereits wieder abgesunken war, höher, indem nun Kohlenhydrat zur Verbrennung zur Verfügung stand, das durch die Alkoholwirkung gespart worden war.

12. Wurden 100 g Lävulose gegeben und im Gefolge zu einer Zeit, zu der der Quotient Werte von Eins oder über Eins im Lävuloseversuch erreichte, 30 ccm Alkohol zugeführt, so sank der respiratorische Quotient sofort ab wie im Dextroseversuch.

13. Wurden in stündlichen Intervallen 30 g Dextrose neben Alkohol gegeben, so vermochten die Dextrosegaben, die den Quotienten an und für sich auf Eins erhoben hätten, bei Alkoholgegenwart das Niedrigbleiben des Quotienten nicht zu verhindern, und zwar selbst dann nicht, wenn die 30 g Lävulose 2 Stunden nach der Alkoholzufuhr gegeben worden waren. Die Alkoholwirkung war demnach eine lange nachdauernde.

14. Die durch Lävulose wie durch Dextrose ausgelöste Umsatzsteigerung erfuhr auch in den Alkoholversuchen keine Veränderung, obwohl in diesen die Zucker nicht verbrannten

und in größerer Menge überschüssig im Körper vorhanden sein mußten.

15. Durch die Alkoholdarreichung während der Zeit intensiver Zuckerverbrennung wurde der calorische Umsatz in der Zeiteinheit nicht verändert.

16. In der ersten Zeit nach der Alkoholzufuhr wurden maximal 70 bis 100 mg Alkohol pro Minute verbrannt; es dauerte demnach die Alkoholverbrennung neben der Zuckerdarreichung viele Stunden an.

17. Opium hatte keinen der Alkoholwirkung nur entfernt ähnlichen Einfluß auf den Stoffwechsel. Eine narkotische Wirkung des Alkohols als Ursache für die beobachteten Erscheinungen konnte ausgeschlossen werden.

18. Im Zustande überreichlichen Bestandes des Körpers an Kohlenhydraten, also selbst zu einer Zeit, zu der der Körper das intensivste Bestreben hat, durch Verbrennung sich des Überschusses an Kohlenhydrat zu entledigen, wird durch die Gegenwart von Alkohol eine Einschränkung der Kohlenhydratverbrennung herbeigeführt. Es wird Kohlenhydrat durch den Alkohol gespart und dieser verbrennt zu seinem vollen Brennwerte als Ersatz an Stelle des Kohlenhydrates.

Es scheint nicht überflüssig, als Schluß zu der Feststellung der Tatsache vollwertiger energetischer Sparwirkung des Alkohols an Stelle von Kohlenhydrat hinzuzufügen, daß der neuerliche Beweis für die Bewertung des Alkohols als Nahrungsmittel kein Beweis dafür ist, daß Alkohol ein gutes oder zweckmäßiges Nahrungsmittel ist. Die Feststellung, daß auch geringe Dosen von Alkohol schädigend beim Menschen auf den Umsatz bei der Leistung von Arbeit einwirken können, wie dies der eine von uns in den Versuchen auf dem Bilkengrat nachwies, sowie die Summe der klinischen Erfahrungen und der pathologisch-anatomischen Befunde über die toxische Wirkung des Alkohols auf die Gewebe, werden durch die theoretisch-experimentelle Feststellung des Ersatzes von Kohlenhydrat durch Alkohol nicht berührt.

Nachtrag zu meiner Arbeit: Über die Verwendung von Rotkohlauszug als Indicator bei der colorimetrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration.

(Diese Zeitschr. **48**, 291, 1913.)

L. E. **Walbum** (Kopenhagen).

(Eingegangen am 20. März 1913.)

Im Anschluß an meine obengenannte Arbeit teile ich, von Dr. E. Fuld aufgefordert, mit, daß dieser Forscher schon im Jahre 1905 (Münch. med. Wochenschr. Nr. 25) die Verwendbarkeit des Rotkohlauszuges als Indicator beschrieben hat. Es ist indessen bekannt, daß zahlreiche vegetabilische Farbstoffe verschiedene Farben in saurem, neutralem oder alkalischem Medium aufweisen, und daß mehrere dieser Farbstoffe als verwendbare Indicatoren vorgeschlagen worden sind.

Indem ich bedaure, daß die Abhandlung von E. Fuld meiner Aufmerksamkeit entgangen ist, möchte ich gleichzeitig bemerken, daß das Hauptresultat meiner Arbeit nicht das Umschlagen des Indicators in saurem und alkalischem Medium ist, sondern dessen Verwendbarkeit bei der colorimetrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration, und zwar besonders in proteinhaltigen Flüssigkeiten, wo die im Gebiete dieses Indicators bisher untersuchten Indicatoren sich weniger brauchbar gezeigt haben.

Über fermentähnliche und Fermentreaktionen des Blutserums während der Gravidität.

Von

Julius Neumann.

(Aus dem Laboratorium der L. Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 6. März 1913.)

I.

Die fermentativen Eigenschaften des Blutserums während der Gravidität waren besonders in neuerer Zeit öfters Gegenstand des Studiums.

Graefenberg[1]), später Becker[2]), Thaler[3]), Jochmann[4]) u. a. beschäftigten sich mit der erhöhten antitryptischen Wirkung des Blutserums Gravider, eine Erscheinung, die als Gegenreaktion auf die Einfuhr proteolytischen Fermentes aus der Eiperipherie in das mütterliche Blut aufgefaßt wird.

Die Vorstellung, der zufolge Zellen der Chorionzotten sich loslösen und ins Blut der Graviden gelangen, hat Abderhalden[5]) zu der weiteren Annahme veranlaßt, daß dieses blutfremde Material fermentativ abgebaut werde, und er konnte mittels eines Placentarpeptons eigener Bereitung auf optischem Wege eine spaltende Wirkung des Blutplasmas Schwangerer nachweisen, die nach Angaben dieses Autors dem Serum unter anderen Umständen nicht zukommen soll. Als klinische Methode zum biologischen Nachweis der Schwangerschaft wurde Abderhaldens Verfahren von verschiedenen Seiten mit großem Erfolge benutzt. Die Annahme aber, daß es sich im Blutserum Gravider um spezifische Fermente handelt, ist durch Paul Lindigs[6]) Untersuchungen fraglich

1) Münch. med. Wochenschr. **1909**, Nr. 14.

2) Münch. med. Wochenschr. **1909**.

3) Gynäk. Kongr. **1909**, 293.

4) Arch. f. Gynäk. **89**.

5) S. u. a. Schutzfermente d. tier. Organismus usw. S. 76 ff. Berlin 1912.

6) Über Serumfermentwirkungen bei Schwangeren und Tumorkranken. Münch. med. Wochenschr. **1913**, 288.

geworden, denn es ergab sich, daß nicht bloß Serum von Graviden, sondern auch dasjenige von Genitaltumorträgern, vielleicht auch von Frauen mit Entzündungen „das Eiweiß von Placenta, Uterus und Ovar, von Tumoren des Genitales und in geringerem Maße auch Muskeleiweiß abbaut“. Die nachgewiesenen Fermente besitzen daher „allgemein-proteolytische Wirkung“.

Es ist nicht meine Aufgabe, die Voraussetzungen der erwähnten Autoren für ihre Forschungen einer Kritik zu unterziehen, da es sich im folgenden nicht um eine Nachprüfung handelt. Wie wichtig eine solche Revision aber immerhin wäre, geht wohl daraus am deutlichsten hervor, daß es kaum eine Erscheinung auf dem Gebiete der Physiologie und Pathologie der Schwangerschaft gibt, die nicht mit dem Zellstoffwechsel, besonders mit dem fermentativen Verhalten des mütterlichen Serums (und der Placenta) in Zusammenhang gebracht worden wäre.

Bei meinen Untersuchungen ging ich von der Betrachtung einer der auffallendsten und konstantesten Begleiterscheinungen der physiologischen Gravidität aus; denn wohl als solche ist die „Pigmentreaktion“ aufzufassen. Bei dem Versuche, diese überaus auffallende Erscheinung dem Verständnis näher zu bringen, mußte vor allem daran gedacht werden, daß die Bildung der melanotischen Pigmente nach der übereinstimmenden Ansicht der Autoren auf die Wirkung von Oxydasen zurückzuführen sei. Die Frage allerdings, ob es sich dabei um die Tyrosinoxydase handle, wie von Fürth und Schneider[1]) meinen, oder ob gelegentlich auch andere Oxydasen eine aktive Rolle spielen, ist noch strittig. Battelli und Stern[2]) geben immerhin die Möglichkeit zu, daß die Pigmente auch durch die Wirkung der Polyphenoloxydasen bedingt seien. Diese Ansicht wird besonders durch die Beobachtung Neubergs[3]) gestützt, der aus einem Melanom eine Fermentlösung darstellen konnte, die Adrenalin zu oxydieren imstande war. Durch die Untersuchung von H. Eppinger[4]) aus unserem Institute erscheint die Melaninbildung aus Tryptophan erwiesen.

Bei der Wahl des Untersuchungsmaterials mußte natürlich mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß dasjenige Organ, an dem die „Pigmentreaktion“ zutage tritt, die Haut, oder bestimmte Elemente der Haut der ausschließliche Ort seien, an dem sich die Erscheinung abspielt, d. h. die oxydierenden und oxydablen Substanzen könnten hier aufgestapelt werden und zur Wirkung gelangen. Obwohl es von anderen Organen uns nicht bekannt ist, daß sie während der Gravidität einer Pigmentreaktion unterliegen, ging ich bei meinen Untersuchungen dennoch von der Voraussetzung aus, daß die Haut als das Oberflächenorgan nur das Depot, die Prädilektionsstelle sei für eine Reaktion, daß aber an der biochemischen Zustandsänderung vermutlich alle Körpersäfte teilnehmen.

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. und Pathol. 1, 229, 1901 bis 1902.
[2]) Ergebn. d. Physiol. 12, 186.
[3]) Diese Zeitschr. 8, 383 und Virchows Arch. 192, 514.
[4]) Diese Zeitschr. 28, 181.

Dafür sprach wohl der Umstand, daß fast in allen Geweben der höheren Tiere Oxydasen oder doch oxydierende Eigenschaften nachgewiesen wurden; allerdings verdient hervorgehoben zu werden, daß die Polyphenoloxydasereaktion in der Mehrzahl der Tiergewebe negativ ausfällt und daß dieses Verhalten auf das gleichzeitige Vorkommen reduzierender Substanzen zurückgeführt wird.

Eine Ausnahme hiervon bildet die Indophenolprobe, die mit den meisten Tiergeweben positiv ausfällt. Vermutlich hängt dieser scheinbare Widerspruch mit der überaus leichten Oxydierbarkeit des Röhmann-Spitzerschen Reagens zusammen.

Ich wandte nun mein Interesse aus Gründen, die sich aus dem Vorstehenden von selbst ergeben, den oxydativen Eigenschaften des Blutes bzw. des Blutserums zu. Zahlreiche Arbeiten beschäftigten sich bereits mit diesem Gegenstande und, soweit deren Resultate zum Verständnis der hier mitzuteilenden Untersuchungen von Belang sind, möge darüber kurz folgendes berichtet werden.

Während ältere Autoren stets die Ansicht vertraten, daß die Oxydationsfermente des Blutes ausschließlich an die Zellen, besonders an die Leukocyten gebunden seien, fanden Abelous und Biarnès[1]) mit dem Reagens von Röhmann und Spitzer positive Reaktion des Hundeblutserums; es gelang ihnen auch, die Oxydation von Salicylaldehyd zu Salicylsäure mit Blutserum[2]), was Salkowski[3]) in Abrede gestellt hatte.

Abelous und Biarnès[4]) fanden ferner eine Oxydase im Blute, die Guajac-Tinktur bläut, die sog. Globulinoxydase, die wahrscheinlich aus den Leukocyten stammt. Bourquelot[5]) hingegen wies im Blute eine Peroxydase nach, die Guajac-Tinktur nur bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd bläute. Nach Ewald Walthers[6]) Untersuchungen sind jene Oxydasen, die Guajac-Tinktur bläuen, im Blute wohl nur in Spuren vorhanden. Die Reaktion auf Peroxydasen gelingt zwar, aber auch mit gekochtem Blut, was gegen die Fermentnatur spricht, und endlich wies er auch eine Superoxydase oder Katalase, Senters Hämase, im Blute nach, also die Eigenschaft, aus Wasserstoffsuperoxyd Sauerstoff abzuspalten. Die Katalase soll nach Adolf Jolles[7]) ausschließlich in den geformten Blutelementen, wahrscheinlich in den Erythrocyten enthalten sein. Bemerkenswert ist die Feststellung von Lockemann und Johannes Thies[8]), daß der Katalasegehalt des foetalen Kaninchenblutes wesentlich geringer ist als der des mütterlichen.

---

[1]) Ergebn. d. Physiol. **12**, 186.

[2]) Sur le pouvoir oxydant du sang. Arch. de Physiol. **1894**, 595.

[3]) Virchows Arch. **147**, 1.

[4]) Oppenheimers Handb. d. Biochem. **2**, 2. Abt.

[5]) Oppenheimers Handb. d. Biochem. **2**, 2. Abt. S. 95.

[6]) Arch f. d. ges. Physiol. **116**, 334.

[7]) Münch. med. Wochenschr. **1904**, 2083.

[8]) Diese Zeitschr. **25**, 120.

Meine eigenen Untersuchungen beruhen auf einer Prüfung der oxydativen und reduzierenden Eigenschaften des Blutserums in den verschiedenen Monaten der Schwangerschaft. Als Vergleichsobjekt wurde das Serum von nichtgraviden Frauen und von Männern und ferner das Nabelschnurblutserum Neugeborener verwendet. Im ganzen kam das Serum von 500 Individuen zur Untersuchung[1]).

Es verdient vor allem hervorgehoben zu werden, daß die Prüfung der Seren mit Guajac-Tinktur — bei der zur Anwendung gebrachten Technik, die im wesentlichen in der Untersuchung kleiner Mengen bestand — keine Bläuung ergab; auch dann nicht, wenn der Probe Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt wurde. Ich will mich mit der Ursache dieser Erscheinung nicht näher beschäftigen und nur bemerken, daß daran wahrscheinlich reduzierende Substanzen schuld sind.

Zahlreiche Versuche mit Pyrogallol, Paraphenylendiamin, bzw. dem Reagens von Röhmann-Spitzer (α-Naphthol- und Paraphenylendiamin zu gleichen Teilen in schwach alkalischer Lösung) zum Nachweise von Polyphenoloxydasen ergaben keine brauchbaren Resultate. Die Ursache dafür ist wohl in der leichten Autooxydation dieser Substanzen durch den Luftsauerstoff zu suchen.

Von dem größten Interesse war hingegen das Verhalten des Blutserums gegen Adrenalin. Ich verwendete eine 1‰ige Adrenalinlösung, und zwar das Tonogen suprarenale Richter und beobachtete die Reaktionen in einem mit Glaswänden versehenem Thermostaten. Es ergab sich nämlich, daß Serum imstande war, Adrenalin in ein gefärbtes Oxydationsprodukt zu verwandeln, und es hatte zunächst den Anschein, daß es sich hierbei um eine Fermentreaktion handle.

Wissen wir doch durch Langlois[2]), daß die Oxydasen des Krebsblutes, durch G. Bertrands[3]) Untersuchungen, daß die Laccasen Adrenalin zu oxydieren vermögen und daß nach

---

[1]) Dieses Arbeitsmaterial stammt zum größten Teile aus der I. Universitäts-Frauenklinik, derem Vorstand, Herrn Hofrat Professor Dr. Friedrich Schauta, ich für die Überlassung verbindlichst danke.

[2]) Compt. rend. Soc. Biol. 1897, 524.

[3]) Compt. rend. 138, 649, 1904.

der nunmehr wohl allgemein gültigen Anschauung diese Eigenschaft allen Polyphenoloxydasen zukommen soll.

Ich beobachtete die Beschleunigung der Reaktion durch Erhöhung der Temperatur des Mediums, durch Belichtung und durch das Zusetzen von sehr verdünnten Metallsalzlösungen, die als aktivierende Katalysatoren von Oxydasen bekannt sind. Ansäuerung der Proben hemmte, Alkalizusatz förderte die Reaktion.

Aber von weit größerem Interesse als die Natur der oxydierenden Substanzen war zunächst der Umstand, daß die untersuchten Seren konstante Differenzen aufwiesen. Diese Unterschiede ergaben sich bei einem bestimmten, und zwar optimalen Mischungsverhältnis der Ingredienzien und auf diese, übrigens sehr einfache Technik beziehen sich die nachstehend verzeichneten Resultate.

Ich nahm 0,2 ccm Serum, füllte mit 0,8 ccm einer 0,85 $^0/_0$igen Kochsalzlösung auf und gab 0,2 ccm Adrenalin hinzu.

Die Probe nun, die retroplacentares oder durch Venaepunktion gewonnenes Serum einer Hochgraviden enthielt, färbte sich rot, während die Nabelschnurblutserum enthaltende Probe ungefärbt blieb, und zwar nach etwa 24 Stunden, wenn die Proben bei Zimmertemperatur standen, nach 4 bis 6 Stunden bei 37^0 und schon nach $^1/_2$ bis 1 Stunde bei 50^0. Die regelmäßig aufgestellten Kontrollproben (1 ccm Kochsalzlösung und 0,2 ccm Adrenalin enthaltend) blieben stets farblos.

Hatte man ein anderes Mengenverhältnis gewählt, insbesondere wenn die Proben mehr Serum enthielten, dann trat dieser Unterschied zurück, und auch die mit Serum des Neugeborenen beschickten Proben reagierten positiv, der Farbenton wurde intensiver rot bis braun.

Die angegebene Dosis von 0,2 ccm Serum stellt demgemäß die untere Grenze dar, bei der die Oxydation des Adrenalins durch das Serum Neugeborener regelmäßig ausbleibt. Die Probe drückt zugleich das optimale Verhältnis aus, durch das es regelmäßig gelingt, diejenigen Unterschiede darzustellen, die in bezug auf die Fähigkeit, Adrenalin zu oxydieren, zwischen dem „mütterlichen“ und „kindlichen“ Blutserum bestehen.

Dieser Feststellung ist jedoch hinzuzufügen, daß sich in der Weise nicht bloß das Serum Gebärender und Hochgravider vom Serum Neugeborener unterschied, sondern auch das Blut-

serum von Graviden in den ersten Monaten der Schwangerschaft und ferner dasjenige von nichtgraviden Frauen und von Männern.

So ergab sich als nächste Frage, ob sich wohl das Serum gravider Frauen von demjenigen nichtgravider durch seine adrenalinoxydierende Kraft differenzieren lasse. Zur Entscheidung dieser wichtigen Frage wurde nach vielen anderen Versuchen als das Zweckmäßigste erkannt, fallende Mengen des Serums mit 0,2 ccm Adrenalin zu versetzen und unter den verschiedensten Versuchsbedingungen zu beobachten.

Diesbezüglich angestellte Untersuchungen ergaben nun das interessante Resultat, daß die oxydierende Kraft des Serums nicht allein am Ende, sondern schon am Anfange der Gravidität eine größere zu sein pflegt als bei Nichtgraviden, und daß es sich hier um eine im Verlaufe der Schwangerschaft wahrscheinlich progrediente Erscheinung handelt.

Nach dieser Darstellung sollte man meinen, daß es leicht möglich sei, für die sich unterscheidenden Seren bestimmte Oxydationswerte anzugeben; aber das ist nicht möglich, wenngleich das Serum Hochgravider, bzw. retroplacentares Serum sich stets als erhöht im Oxydationswert erwiesen hat. Der Unterschied von Seren Gravider und Nichtgravider ist in den ersten Monaten der Schwangerschaft nicht immer prägnant. Gelegentlich wirkt das Serum einer nichtgraviden Frau auch stärker oxydierend auf Adrenalin. Offenbar handelt es sich hier um individuelle Differenzen, während der Schwangerschaft also um eine relative Erhöhung des Oxydationswertes.

Eine einwandfreie Verwertung der festgestellten Werte scheiterte übrigens auch an dem Umstande, daß die käuflichen Adrenalinpräparate keineswegs stets dieselbe Resistenz gegen die Oxydation darbieten, was sicherlich mit dem Alter, möglicherweise auch mit der Acidität der Substanz zusammenhängt. Bei einer eventuellen Nachprüfung könnte diesem Übelstande natürlich leicht abgeholfen werden.

War wohl durch die geschilderte Reaktion der Adrenalinoxydation eine Graviditätsdiagnose nicht gefunden, so mußte doch die ausnahmslos nachweisbare Differenz zwischen „mütterlichem“ und „kindlichem“ Serum im höchsten Maße auffallen.

Es galt vor allem die Frage zu studieren, ob die auftretende Rotfärbung der Tätigkeit eines echten Fermentes zuzuschreiben sei. Ich habe schon früher darauf hingewiesen, daß die Reaktion durch Belichtung und Temperaturerhöhung beschleunigt werden konnte. In zahlreichen Paralleluntersuchungen wurde auch festgestellt, daß die Reaktion rascher und intensiver ausfiel, wenn statt der physiologischen Kochsalzlösung destilliertes Wasser benutzt wurde; desgleichen fördert Leitungswasser die Reaktion, noch mehr eine physiologisch äquilibrierte Lösung (H_2O 1000 ccm, NaCl 10 g, KCl 0,2 g, $CaCl_2$ 0,2 g, $NaHCO_3$ 0,1 g). Frische Seren reagierten prompter als nach 1 bis 2 mal 24 Stunden, ein Umstand, der die Aufstellung eines bestimmten Oxydationswertes gleichfalls erschwerte.

Hier soll übrigens vermerkt werden, daß selbstverständlich nur frische, nicht hämolytische und keimfreie Seren benutzt wurden.

Ich muß aber betonen, daß die Oxydation des Adrenalins weder durch aufgeschossene Bakterien, noch durch den Hämoglobingehalt des Serums wesentlich beeinträchtigt wird. Besonders konnte nicht konstatiert werden, daß hämolytische Seren Adrenalin rascher oder intensiver oxydieren.

Wie schon erwähnt, hing die Reaktionsgeschwindigkeit auch von der Menge des zugesetzten Serums ab. So reagierte z. B. 0,2 ccm „mütterliches" Serum bei 45° schon nach 30 Min., 0,04 ccm desselben Serums aber erst nach 60 Min. und schwächer.

Endlich wurde auch mit Erfolg versucht, die Oxydation des Adrenalins durch Metallsalzlösungen, von denen eine „Aktivierung" der oxydierenden Fermente angenommen wird, zu beschleunigen. Zu diesem Zwecke dienten, in wässeriger und physiologisch äquilibrierter Lösung: nach dem Vorgange Bertrands Mangansulfat, ferner Ferrosulfat, Platinchlorid und Osmiumsäure, von welch letzterer K. A. Hofmann[1]) in neuerer Zeit mitgeteilt hatte, daß es Oxydationsvorgänge in hohem Maße zu beschleunigen imstande sei.

Alle diese Substanzen, besonders aber die Osmiumsäure, Mangan- und Ferrosulfat, und zwar in absteigender Ordnung

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **1912**, 3329.

vom Osmium zum Eisen, beschleunigen nun tatsächlich die Oxydation des Adrenalins durch Serum. Um ihre „aktivierende“ Wirkung der oxydativen Fähigkeit des Serums zu erkennen, ist es natürlich notwendig, sie in solchen Mengen anzuwenden, die allein nicht zur Oxydation des Adrenalins hinreichen.

Ich notiere hier z. B. das Resultat einer solchen Kontrollprüfung: 0,8 ccm der beschriebenen physiologisch äquilibrierten Lösung mit 0,2 ccm Adrenalin ergibt bei Zusetzen von 0,2 ccm einer 0,1 $^0/_0$ igen Ferrosulfatlösung in physiologisch äquilibrierter Neutralsalzlösung stark violette Färbung; schwächere Färbung tritt noch auf bei Verdünnung der Eisenlösung bis auf 0,001 $^0/_0$. Die adäquaten Lösungen dieses Salzes in destilliertem Wasser oder in physiologischer Kochsalzlösung vermögen jedoch 0,2 ccm Adrenalin in derselben Zeit nicht zu oxydieren. 0,1 $^0/_0$ ige Platinchloridlösung ergibt sowohl in wässeriger, Kochsalz- oder physiologisch äquilibrierter Lösung positive Adrenalinreaktion; 0,05 $^0/_0$ ige und 0,01 $^0/_0$ ige Lösungen fallen jedoch negativ aus.

Man wird bei Nachprüfungen auf „aktivierende“ Zusätze im allgemeinen verzichten können. Besonders ist deren Weglassung zu empfehlen, wenn es sich um ein leicht zersetzliches Adrenalinpräparat handelt oder um Untersuchungen bei höherer Temperatur, weil bei Benutzung eines Aktivators nunmehr auch diejenigen prägnanten Unterschiede aufgehoben würden, die sonst zwischen „mütterlichem“ und „kindlichem“ Serum regelmäßig nachzuweisen sind.

Anderenfalls aber empfehlen sich als Zusätze zur beschriebenen Reaktion:

a) 0,2 ccm einer 0,001 $^0/_0$ igen und b) 0,2 ccm einer 0,0001 $^0/_0$ igen wässerigen Ferrosulfatlösung; c) 0,2 ccm einer 0,05 $^0/_0$ igen und d) 0,2 ccm einer 0,01 $^0/_0$ igen wässerigen Platinchloridlösung in Parallelproben und mit Kontrollproben.

Mit diesen Zusätzen gelingt es z. B. bei einer Thermostatentemperatur von 45 bis 50^0 in $^3/_4$ bis $1^1/_2$ Stunden stets die schöne Rotfärbung des Adrenalins durch „mütterliches“ Serum zu erzielen, während in den Proben des „kindlichen“ Serums keinerlei Farbenänderung zu bemerken ist.

Sprach nun diese Wirkung „aktivierender“ Substanzen gleichfalls für den fermentativen Charakter der oxydierenden Substanzen im Blutserum, so erhielt diese Ansicht vielleicht

noch eine weitere Stütze durch die folgende Prüfung, von der es anfangs schien, daß sie die Frage der Fermentnatur entscheiden müßte.

Das entsprechend mit 0,85 %iger Kochsalzlösung verdünnte Serum wurde zunächst 1 Stunde lang einer Temperatur von 56° ausgesetzt und auf solche Weise „inaktiviert". Nunmehr fiel die Oxydation des Adrenalins schwächer aus und das Temperaturoptimum konnte um 50° herum angenommen werden. Dann wurde bei 100° gekochte Serum-Kochsalzlösung filtriert und untersucht; jetzt blieb die Reaktion zunächst völlig aus, trat aber, allerdings in beträchtlich schwächerem Maße, nach vielen Stunden dennoch auf[1]). Ob es sich nun hier um eine Autooxydation des Adrenalins handelte oder um eine Regeneration fermentativer Substanzen, ein Vorgang, dessen Möglichkeit für die Peroxydasen zugegeben wird, muß natürlich unentschieden bleiben. Da aber nach Abelous und Biarnès[2]) die Polyphenoloxydasen der höheren Tiere bei 70° vernichtet werden, ist das nicht sehr wahrscheinlich. Endlich darf auch nicht außer acht gelassen werden, daß der Gehalt des Serums an Salz- und Eiweißverbindungen der Metalle, besonders an solchen des Eisens beim Zustandekommen unserer Reaktion möglicherweise eine Rolle spielt. Das soll aber in dieser Arbeit nicht weiter erörtert werden, und zwar unter dem Hinweise, daß darauf bezügliche Untersuchungen während der Schwangerschaft noch nicht abgeschlossen sind.

Erwähnenswert bleibt immerhin, daß weder Tyrosin noch Tryptophan durch Blutserum in ein gefärbtes Produkt verwandelt wird; hingegen gelang es, die Leukobase des Methylenblau (Tetramethyldiamidotriphenylmethan) in wässeriger, mit Essigsäure etwas angesäuerter Lösung durch „mütterliches" Serum zu einem blaugrünen Produkt zu oxydieren.

Schließlich berichte ich, daß auch das Serum von Kaninchen und Meerschweinchen Adrenalin zu oxydieren vermag, daß zwischen arteriellem und venösem Blutserum des Kaninchens ein Unterschied nicht zu konstatieren war und auch ein

---

[1]) Bemerkenswert ist, daß der Unterschied zwischen „mütterlichem" und „kindlichem" Serum sich nunmehr geradezu umkehrt.

[2]) Compt. rend. Soc. Biol. 1897, 173.

darauf untersuchtes Immunserum sich nicht wesentlich anders verhielt als das entsprechende Kontrollserum.

Fasse ich die bisher mitgeteilten Ergebnisse meiner Untersuchungen zusammen, so ergibt sich

1. daß das menschliche Blutserum imstande ist, Adrenalin zu einem gefärbten Produkt zu oxydieren;
2. daß die oxydierende Kraft des Blutserums während der Gravidität gesteigert ist, und daß
3. das Nabelschnurblutserum eine weitaus geringere oxydative Kraft besitzt.
4. Die Oxydation des Adrenalins durch Serum verläuft unter dem Bilde der Fermentreaktionen;
5. sie könnte auf den Gehalt von Polyphenoloxydasen zurückgeführt werden.
6. Welche Rolle hierbei metallischen Katalysatoren zukommt, bleibt vorläufig noch offen.
7. Der erhöhte Oxydationswert des Serums Gravider steht sehr wohl im Einklang mit der „Pigmentreaktion“ Gravider, die dadurch verständlicher wird.

II.

Bei der weiteren Feststellung dieser überaus interessanten Differenzen zwischen „mütterlichem“ und „kindlichem“ Serum mußte vor allem daran gedacht werden, daß reduzierende Substanzen daran schuld seien, wenn — wie schon erwähnt — die Polyphenoloxydasenreaktionen in der Mehrzahl der Tiergewebe negativ ausfallen. Es konnte nun die Möglichkeit bestehen, daß auch das differente Verhalten gegen Adrenalin auf einen verschiedenen Gehalt an reduzierenden Substanzen zurückzuführen sei.

Diese Gegenprobe, die in anschaulicher Weise von der Richtigkeit der ausgeführten Anschauung zu überzeugen vermag, stellte ich auf folgende Weise an. Ich setzte zu einer Methylenblaulösung etwas Serum zu und beobachtete unter Zuhilfenahme einer Kontrollprobe den Farbenton der Reaktionen. Da stellte sich nun alsbald heraus, daß jedes Blutserum imstande sei, Methylenblau zu reduzieren, und zwar sowohl in wässeriger als in physiologisch äquilibrierter Lösung.

Sieht man von individuellen Differenzen, deren Ursache vorerst noch unklar blieb, ab, so ergab sich die ausnahmslos zu beobachtende Tatsache, daß Nabelschnurblutserum intensiver reduzierte als das Serum von Graviden.

Am besten bewährte sich die folgende Probe: 1 ccm einer 0,25 $^0/_0$igen Lösung von Methylenblau in der angegebenen physiologisch äquilibrierten Flüssigkeit wurde mit 0,5 ccm Serum versetzt und gegen eine mit 0,5 ccm 0,85 $^0/_0$ige Kochsalzlösung versetzten Kontrollprobe derselben Methylenblaulösung beobachtet. Bei Zimmertemperatur etwa nach einer Stunde, bei Thermostatentemperatur von 37° schon nach 15 bis 30 Minuten, bei höherer Temperatur in noch kürzerer Zeit bemerkt man, daß die Methylenblaulösung durch das Serum eine hellere Farbe gewinnt; aber während die Probe mit „mütterlichem“ Serum blau bleibt, wird die „kindliches“ Serum enthaltende Probe smaragdgrün. Durch ein anderes Mischungsverhältnis gelingt es, die Methylenblaulösung durch „kindliches“ Serum auch total zu entfärben.

Fördernden Einfluß auf den Ablauf dieser ausnahmslos nachweisbaren Erscheinung hat nicht bloß die Erwärmung, sondern auch die Belichtung der Proben.

Zahlreiche daraufhin gerichtete Versuche, aus der reduzierenden Kraft des Serums die Gravidität zu erkennen, mißlangen noch in deutlicherer Weise als durch die Bestimmung des Oxydationswertes der untersuchten Seren. Ja, die individuellen Differenzen scheinen hier noch größer oder die Probe gröber zu sein, und ich bin nicht in der Lage, anzugeben, ob die reduzierende Kraft des Serums während der Gravidität etwa herabgesetzt sei. Nur im allgemeinen darf man die Behauptung aufstellen, daß die oxydierenden und reduzierenden Substanzen, die das Blutserum enthält, sich umgekehrt proportioniert verhalten, und daß dafür im Verhalten des Serums gegen Adrenalin und Methylenblau ein sichtbarer Ausdruck zu finden ist.

Die Fähigkeit des Serums, Farbstoffe zu reduzieren, wurde noch mit zahlreichen anderen Stoffen geprüft (so mit der Farblösung von Biondi-Ehrlich-Heidenhain, mit Kongorot, Scharlach R); sie tritt aber am besten bei Verwendung von Methylenblau und Methylgrün zutage.

Es ist vielleicht am Platze, hier an Bremers Reaktion zu erinnern. Ludwig Bremer[1]) hatte durch Färbungen des auf Deckgläschen gestrichenen Blutes mit verschiedenen Anilinfarben ein besonderes Verhalten des Blutes von Diabetikern nachgewiesen. Normalblut färbt sich blau, diabetisches blaugrün. Bremers Reaktion wird allerdings als unsicher bezeichnet, und ich möchte nur bemerken, daß sich die Verwendung von Blut auch für meine Untersuchungen als unzweckmäßig erwiesen hat.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen war also, daß Nabelschnurblutserum erhöhte Kraft besitzt, Methylenblau zu reduzieren, bzw. daß im „mütterlichen" und „kindlichen" Serum sowohl oxydierende als reduzierende Fermente (Substanzen) enthalten sind, daß aber im „mütterlichen" Serum die oxydierenden, im „kindlichen" Serum die reduzierenden Fermente (Substanzen) zu intensiverer Reaktion gelangen.

Wieder ergab sich die Frage, ob wir es bei der Reduktion des Methylenblau mit der Tätigkeit echter Fermente zu tun haben. Die beobachtete Reduktion ist nun dem Wesen nach sicherlich nicht echten Reduktasen, deren Existenz ja überhaupt kontrovers ist, zuzuschreiben. Erhitzt man nämlich eine Mischung von Methylenblaulösung und Blutserum in dem beschriebenen Verhältnis, so tritt die Reduktion um so rascher und intensiver ein, je höher die Temperatur des Mediums stieg, und bei Siedetemperatur entfärben sich die Proben sofort bis auf geringe Farbreste; der Unterschied zwischen „mütterlichem" und „kindlichem" Serum bleibt in geringem Maße allerdings auch jetzt noch bestehen und kann durch Schütteln deutlicher gemacht werden.

Es sei hervorgehoben, daß die Reduktion von Methylenblau durch das Blut von Diabetikern, die seit Bremers Mitteilung öfters bestätigt wurde, auf die Wirkung des im Blute kreisenden Traubenzuckers zurückgeführt wird. Nach v. Noorden[2]) reduziert Dextrose Methylenblau schon in einer Verdünnung von 1,5 bis $2^0/_{00}$. Auch Verminderung der Blut-

---

[1]) Centralbl. f. inn. Med. 1897, Nr. 22; s. a. R. T. Williamson, Centralbl. f. inn. Med. 1897, Nr. 33.

[2]) Handb. d. Pathol. d. Stoffw. von C. v. Noorden 2, 104.

alkalescenz begünstigt nach Lépine und Lyonnet, J. Loewy, C. Hartwig den positiven Ausfall der Reaktion. Foetales Blut hat aber nach den Messungen von A. Szili[1]) dieselbe Reaktion als das mütterliche.

Aber schon wegen des Reichtumes des Blutserums an Proteinsubstanzen, die bereits wegen ihres Gehaltes an Sulfhydrylgruppen sehr wohl befähigt sein könnten, reduzierend zu wirken, ist es zurzeit nicht möglich, auszusprechen, welchen Substanzen die beobachtete Erscheinung zuzuschreiben sei.

III.

In einer dritten Reihe von Proben wurde das „mütterliche" und „kindliche" Blutserum auch auf seine diastatische Kraft geprüft. Bekanntlich spritzte Magendie Stärkekleister intravenös ein und fand schon nach 10 Minuten keine Jodreaktion mehr, aber erhöhten Zuckergehalt. Manfred Bial[2]) wies dann in einwandfreier Weise nach, daß das saccharifizierende Ferment nicht, wie man bis dahin behauptete, in den roten Blutkörperchen, sondern im Blutserum enthalten sei. Zahlreiche Untersuchungen des Blutserums auf Diastasegehalt bei Diabetes ergaben für die Pathologie dieser Erkrankung keine besonderen Resultate und vor allem kein auffallend abweichendes Verhalten gegen die Norm.

Vergleicht man aber „mütterliches" und „kindliches" Serum, so kann man die interessante Tatsache konstatieren, daß Nabelschnurblutserum eine überaus geringe diastatische Kraft besitzt.

Ich versetzte Arrowrotstärke, die in physiologisch äquilibrierter Lösung mehrere Stunden gekocht, filtriert und auf 1 $^0/_0$ gestellt wurde, und zwar 1 ccm dieser Lösung mit 0,5 ccm Serum.

Bei Zimmertemperatur war nach 24 Stunden der Unterschied zwischen „mütterlichem" und „kindlichem" Serum überaus auffallend, bei 37^0 schon nach 2 Stunden und bei 45^0 noch früher. Man braucht zu den Proben nunmehr bloß einen Tropfen einer 1 $^0/_0$igen wässerigen Jodkalilösung oder zu 1 ccm dieser Lösung einen Tropfen von der Probe zuzufügen: die

---

[1]) Unters. ü. d. Hydroxylionengehalt des placentaren (foetalen) Blutes. Arch. f. d. ges. Physiol. **115**, 72.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **52**, 137.

Probe mit „kindlichem“ Serum färbt sich sofort tief dunkelblau, während die mit „mütterlichem“ Serum versetzte Probe mehr oder weniger verdaut ist und sich dementsprechend gar nicht oder gelb bis rot färbt.

Diese Erscheinung ist überaus konstant, und unter etwa 200 Nabelschnurblutseren fand ich bloß zweimal ein stärkeres diastatisches Vermögen; ich bin jedoch nicht in der Lage, anzugeben, wodurch dieses von der Norm abweichende Verhalten im Einzelfalle bedingt war.

Manfred Bial[1]) hatte im Jahre 1893, von der Ansicht ausgehend, daß sich einige Verdauungsfermente des Tierkörpers in bestimmten Stadien des Embryonallebens bilden, manche auch beim Neugeborenen fehlen oder aber an Wirksamkeit hinter den Fermenten erwachsener Tiere zurückbleiben, bei Tierfoeten und auch am Nabelschnurblut neugeborener Kinder konstatiert, daß sowohl das Gesamtblut als auch das Serum gar keine oder nur äußerst geringfügige diastatische Wirksamkeit besitzt. Hans Schirokauer[2]) bestätigte vor kurzem diese Beobachtung durch Untersuchungen an Meerschweinchen. Bial nahm 5 ccm Serum mit 50 ccm $1^0/_0$igem Stärkekleister und 1 ccm $10^0/_0$iger Thymollösung zu seinen Untersuchungen und digerierte 24 Stunden. Man kann, wie ich es beschrieb, auch mit weniger Serum auskommen und muß die Ergebnisse von Bials Studien nur durchaus bestätigen.

Die Frage jedoch, was wohl die Ursache des geringen diastatischen Vermögens des Serums Neugeborener sei, interessierte zunächst weit weniger als diejenige, ob denn die diastatische Kraft des Blutserums während der Gravidität erhöht sei. War es doch naheliegend, einer solchen Vermutung Raum zu geben, da immerzu von einer Fermentanreicherung des Blutserums Gravider gesprochen wird und die stärkere proteolytische Wirkung jedenfalls zu Recht besteht.

Vergleichende Untersuchungen in dieser Richtung ergaben jedoch keinerlei Bestätigung für eine solche Annahme. Das diastatische Vermögen des Blutserums ist individuell überaus different, und wenn man bei einer großen Zahl von diesbezüg-

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **53**, 156.

[2]) Arch. f. Gynäkol. **91**, 143.

lichen Untersuchungen darüber hinaus ein Urteil sich erlauben kann, so muß ich wohl die Ansicht vertreten, daß die diastatische Kraft des Blutserums Gravider nicht erhöht, sondern gegenüber derjenigen des Blutserums Nichtgravider oftmals herabgesetzt erscheint.

Ich berichtete in dieser Arbeit bloß über Stärkeverzuckerung und lasse die rein amylolytische (stärkelösende) Kraft des Serums, die übrigens der verzuckernden diastatischen parallel ist, außer Betracht. Es ist im Rahmen dieser Arbeit auch nicht möglich, auf die diastatischen Verdauungsprodukte, mit denen sich Bial[1]) beschäftigte, einzugehen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen, der Nachweis, daß das Serum Gravider die Eigenschaft besitzt, leichter Sauerstoff zu übertragen als das stärker reduzierende Serum Neugeborener, und daß dieses letztere Stärke nur in sehr geringem Maße abzubauen imstande ist, werfen immerhin ein überaus interessantes Licht auf die „Pigmentreaktion" der Graviden und die Ernährungsweisen der Frucht im Uterus.

---

[1]) l. c.

Zur Bestimmung der sogenannten „Restreduktion" des Blutes.

Von

Paul Mayer (Karlsbad).

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 15. März 1913.)

Für zahlreiche Fragen des Kohlenhydratstoffwechsels ist die Kenntnis des Blutzuckergehalts von größter Wichtigkeit. Freilich weiß man, besonders durch die Arbeiten von Otto[1]), Andersson[2]), Pavy[3]), Lépine[4]), Neuberg und Strauß[5]), sowie durch meine eigenen Untersuchungen[6]), daß im Blut neben Traubenzucker noch andere Substanzen der Kohlenhydratreihe vorkommen (Glucuronsäure, Isomaltose (?), Maltose (?), Fructose, Dextrine (?)[7]), die größtenteils reduzieren und sämtlich optisch aktiv sind.

Zu diesen treten noch andere reduzierende Blutbestandteile, wie Urochrom, Kreatin und Purine. Über einen eventuellen genetischen Zusammenhang des Traubenzuckers mit den übrigen Kohlenhydraten im Blut ist nichts Sicheres bekannt. Und auch das Verhältnis der reduzierenden Nichtzuckerstoffe zu den eigentlichen Kohlenhydraten wird sehr verschieden angegeben. Die kombinierte Anwendung der beiden souveränen Methoden zur Bestimmung des Zuckergehalts — Polarisation

---

1) Otto, Arch. f. d. ges. Physiol. 35, 467, 1885.

2) Andersson, diese Zeitschr. 12, 1, 1908.

3) Pavy und Siau, Journ. of Physiol. 26, 3, 1901.

4) Lépine et Boulud, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 133, 138, 1901.

5) Neuberg und Strauß, Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 227, 1902.

6) P. Mayer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 32, 518, 1901.

7) Das sog. Jecorin erwähne ich absichtlich nicht, weil dessen Existenz z. T. schon durch meine eigenen Arbeiten (diese Zeitschr. 1, 81, 1906 und 4, 545, 1907) sehr fragwürdig geworden ist.

und reduktionsanalytisches Verfahren —, die an sich gewichtige Anhaltspunkte gewähren kann, vermag über die Menge der den Zucker begleitenden Nichtzuckerstoffe keinen Aufschluß zu geben, da eine Reihe derselben mit unbekanntem Index von Reduktions- und Drehungsvermögen am zustandekommenden Effekte beteiligt sind. Daß die Quantität dieser Nichtzuckerstoffe keineswegs zu vernachlässigen ist, dafür führe ich die Versuche von Andersson[1]) an, demzufolge im Kaninchenblut 25°/$_0$ der Gesamtreduktion auf Nichtzuckerstoffe zu beziehen sind.

Unter den geschilderten Umständen ist es klar, daß man nur auf eine Weise zu einem klaren Bilde der Verhältnisse gelangen kann, nämlich durch eine restlose Entfernung der Begleitstoffe oder eine vollständige Beseitigung des Bluttraubenzuckers. Nur für die letztgenannte Substanz ist das Prinzip einer solchen Methode bekannt. Es gründet sich auf die Vergärbarkeit der Glucose.

In praxi ist man nun stets so verfahren, daß man nach vollzogener Vergärung das Drehungsvermögen oder die Reduktionskraft der restierenden Lösung untersucht hat. Man hat aber dabei unterlassen, sich kritische Rechenschaft darüber abzulegen, ob der Vergärungsakt nicht Stoffe in das Gärgut liefert, die den erstrebten Effekt vereiteln. Für den Harn hat auf diese Verhältnisse Neuberg[2]) die Aufmerksamkeit gelenkt, indem er gezeigt hat, daß vergorene Zuckerlösungen noch optisch aktiv sein können. In der Mehrzahl der Fälle beobachtete er eine Rechtsdrehung, seltener eine Linksdrehung. Außerdem konstatierte er die Anwesenheit von Purinen. Direktes Reduktionsvermögen war nicht vorhanden; wohl aber war ein solches nach voraufgegangener Behandlung mit Phosphorwolframsäure sowie Bleiacetat bisweilen zu konstatieren, wodurch kupferoxydullösende stickstoffhaltige Substanzen, namentlich peptonähnliche Körper, entfernt werden.

Sieht man sich nun in der Literatur um, so findet man, daß eine Reihe von Befunden vorliegt, die diese Verhältnisse berühren. Ich erwähne nur die Feststellungen Salkowskis[3]), daß bei jeder Gärung Purine sowohl wie lösliches Hefegummi

[1]) Andersson, l. c.

[2]) Neuberg, diese Zeitschr. 24, 430, 1910.

[3]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 69, 466, 1910.

von der Hefe an die Flüssigkeit abgegeben werden. Ich erwähne ferner die Angabe von Oppler[1]), der ebenfalls Rechtsdrehung vergorener Traubenzuckerlösungen beobachtet hat, diese jedoch nicht als durch Hefeabkömmlinge hervorgerufen betrachtet. Obgleich mit seiner Annahme das Auftreten von Purinen und biuretgebenden Substanzen schwer in Einklang zu bringen ist, so ist an die Angabe von Buchner und Meisenheimer[2]) zu erinnern, daß während der Gärung aus dem vorhandenen Traubenzucker gärungsfähige höhere Zuckerarten synthetisiert werden.

Es ist nun klar, daß alle diese Verhältnisse bei der Blutzuckeranalyse eine Rolle spielen müssen, um so mehr, als bei der Kleinheit der überhaupt vorhandenen Zuckermenge sämtliche durch den Gärakt irgendwie gebildeten Substanzen ins Gewicht fallen.

Ich habe nach dieser Richtung eine Reihe von Versuchen angestellt und mich bemüht, die Verhältnisse nachzuahmen, wie sie bei der Blutzuckerbestimmung in praxi gegeben sind.

Zu diesem Behufe wurde eine genau 0,1 $^0/_0$ ige Traubenzuckerlösung (aus reinster Glucose von Kahlbaum in Leitungswasser hergestellt) verwendet, und diese mit einer Anzahl von Reinzuchthefen des Königl. Instituts für Gärungsgewerbe vergoren.

Es wurden je 150 ccm 0,1 $^0/_0$ iger Zuckerlösung mit 1,5 g Reinzuchthefe versetzt, d. h. mit einer Quantität, hinter der die Laboratoriumspraxis sicherlich nicht zurückbleibt. Die Ansätze blieben 20 bis 24 Stunden im Brutschrank und wurden dann in folgender Weise verarbeitet. Ohne vorherige Filtration wurden zu der Mischung 5 ccm kolloidales Eisenhydroxyd sowie 10 ccm Wasser zugesetzt und, wenn nötig, zur vollständigen Ausflockung eine Spur eines festen Neutralsalzes gegeben. Vom wasserklaren Filtrat wurden 110 ccm, entsprechend 100 ccm des ursprünglichen Gärgutes, unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure auf dem Wasserbade auf etwa 4 ccm eingeengt und die restierende Flüssigkeit nach Filtration durch ein kleines Filterchen in einem Meßgefäß auf 6 bis 8 ccm aufgefüllt.

---

[1]) Oppler, Zeitschr. f. physiol. Chem. **75**, 71, 1911.

[2]) Buchner und Meisenheimer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, 3201, 1906.

Drehungsvermögen und Reaktionen dieser Lösungen sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Tabelle I.

150 ccm einer 0,1 %igen Traubenzuckerlösung mit 1,5 g Hefe vergoren. Verhalten von 100 ccm Gärgut nach Konzentration auf 6 bis 8 ccm.

Angewandte Heferasse	Drehung, auf Traubenzucker bezogen %	Reduktion gegen Fehlingsche Lösung	Reduktion gegen alkalisch-ammoniakalische Silberlösung	Purinreaktion	Aminosäurenreaktion	Orcinreaktion
M	+ 0,2	stark positiv	stark positiv	positiv	schwach positiv	negativ
II	+ 0,15	positiv	„ „	„	stark positiv	positiv
G	inaktiv	negativ	positiv	„	positiv	negativ
XII	„	stark positiv	stark positiv	stark positiv	„	„
A	„	negativ	positiv	schwach positiv	stark positiv	„
Bäckerhefe	+ 0,15	„	„	positiv	positiv	positiv
K	inaktiv	„	„	„	negativ	negativ
U	— 0,2	starke Biuretprobe; Reduktion negativ	stark positiv	negativ	stark positiv	„
D	inaktiv	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv
Münchener Bierhefe	— 0,7	„	„	„	„	„

Die Rassen M, II, G, XII, A sind obergärige, K, U, D und die Münchener Bierhefe untergärige Hefen.

Einige der genannten Hefen habe ich später abermals frisch bezogen und zur Anstellung genau der gleichen Versuche benutzt. Das Ergebnis gibt folgende Tabelle wieder.

Tabelle II.

150 ccm einer 0,1 %igen Traubenzuckerlösung mit 1,5 g Hefe vergoren. Verhalten von 100 ccm Gärgut nach Konzentration auf 6 bis 8 ccm.

Angewandte Heferasse	Drehung, auf Traubenzucker bezogen %	Reduktion gegen Fehlingsche Lösung	Reduktion gegen alkalisch-ammoniakalische Silberlösung	Purinreaktion	Aminosäurenreaktion	Orcinreaktion
M	+ 0,6	stark positiv	stark positiv	stark positiv	stark positiv	positiv
II	> + 0,1	negativ	positiv	positiv	negativ	negativ
XII	— 0,5	positiv; starke Biuretprobe	„	„	positiv	positiv
Bierhefe	+ 0,1	schwach positiv	„	„	„	negativ

Die vorliegenden Daten zeigen ohne weiteres, daß sich die verschiedenen Hefen nach Rasse und offenbar auch nach Ernährungszustand nicht gleich verhalten. In zahlreichen Fällen habe ich Drehungen beobachtet, überwiegend nach rechts, einige Male auch nach links. Mehrere der vergorenen Lösungen zeigten direkt ein unverkennbares Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche Lösung mit typischer Ausscheidung von gelbrotem Kupferoxydul. Fast ausnahmslos habe ich mit dem Triketohydrindenreagens nach Ruhemann Aminosäurenkörper nachweisen können, die bisweilen nach der Nuance bei der Anstellung der Fehlingschen Probe sicher biuretgebende Substanzen waren (Peptone). Ebenso regelmäßig konnte ich mit ammoniakalischer Silberlösung Purine erkennen, während beim Erwärmen der mit Alkali versetzten Silberlösung stets mehr oder minder intensive Schwärzung auftrat. In einigen Fällen war auch die Orcinreaktion positiv.

Die Natur der nachgewiesenen Substanzen läßt kaum einen Zweifel daran, daß es sich sicher zum größten Teil um Produkte handelt, die aus der arbeitenden oder absterbenden Hefe herstammen und wohl in erster Linie durch Abbau des Hefeeiweißes und der Hefenucleine entstanden sind. Dazu kommt noch gelöstes Hefegummi. Die relativ häufige Beobachtung von direkter Reduktion kann schwerlich auf unvergorenen Traubenzucker zu beziehen sein, da bei der Menge der angewandten Hefe und der Dauer ihrer Einwirkung die totale Vergärung des Zuckers wohl als sicher angenommen werden darf.

Das einfachste Mittel, um den analytisch sich geltend machenden Einfluß der durch den Gärakt offenbar gebildeten Stoffe auf ein Mindestmaß herabzudrücken, würde nun darin bestehen, die Hefemenge zu vermindern. Um hierüber Aufschluß zu erhalten, habe ich in einer Reihe von Versuchen unter ganz den gleichen Bedingungen je 150 ccm 0,1 %iger Traubenzuckerlösung mit nur je 0,15 g Hefe, d. h. der 10fach geringeren Menge, 20 bis 24 Stunden digeriert. Dabei zeigte sich ausnahmslos, daß die mit kolloidalem Eisenhydroxyd geklärte Gärflüssigkeit bereits vor dem Einengen direkt Fehlingsche Lösung deutlich, bisweilen sehr stark reduzierte. Dies besagt, daß die angewandte Quantität Hefe in der üblichen

Gärungszeit nicht imstande war, den Traubenzucker vollständig zu vergären. Von der Ermittlung der gerade zur völligen Vergärung ausreichenden Hefequantität habe ich abgesehen, da sie mit Rasse und Ernährungszustand offenbar schwankt und sicherlich abhängig ist von gleichzeitig vorhandenen Begleitstoffen, wie insbesondere Salzen und N-haltigen Substanzen. Über diese Faktoren hat man in praxi ohne eingehende Studien niemals Klarheit. Hinzu kommt, daß man wohl nur selten in der Lage ist, Reinzuchthefen anzuwenden und in der Regel die käufliche Bäcker- oder Brauereihefe benutzt, die sicherlich häufig mechanische Verunreinigungen einschließen und sich naturgemäß noch weit weniger konstant verhalten.

Noch ein anderer Punkt verdient der Erwähnung. Es ist vielfach üblich, einfach die vom Hefesatz abfiltrierten Lösungen für die Ermittelung der Restreduktion zu benutzen. Solche Flüssigkeiten dürften noch mehr störende Hefebestandteile enthalten als meine mit kolloidalem Eisenhydroxyd geklärten Lösungen. Denn dieses Fällungsmittel reißt zweifellos eine Reihe in Betracht kommender reduzierender wie drehender hochmolekularer Substanzen nieder.

Es hat sich also jedenfalls gezeigt, daß nach der Vergärung von Zuckerlösungen, die eine dem Blutzuckergehalt entsprechende Konzentration haben, Drehungen sowie Reduktionen auftreten können, die zu einer völlig falschen Beurteilung der Substanzengruppe führen müssen, auf die man die Restreduktion bezieht. Der Einfluß auf die polarimetrischen Ergebnisse ist ohne weiteres klar. Die Einwirkung auf die reduktionsanalytische Bestimmung kann sich in doppelter Weise geltend machen. Bei den auf Kupferoxydulausscheidung basierten Verfahren mischen sich beispielsweise die Purinkupferoxydulverbindungen dem Cu_2O bei, während Aminosäurenkörper zur gleichen Zeit Kupferoxydul in Lösung halten. Der letztgenannte Einfluß fällt fort bei den Farbumschlagsmethoden, deren Endpunkt in der Entfärbung der klaren Kupferlösung gegeben ist. Der Purinfehler spielt jedoch auch hier mit, da die Purine auch in Lösung Kupfer verbrauchen.

Durch diese Versuche wird zweifellos ein Teil der Differenzen der verschiedenen Autoren über die Höhe der Rest-

reduktion seine Erklärung finden, um so mehr als gerade bei der Kleinheit der in Betracht kommenden Mengen reduzierender Substanzen der Einfluß der von der Hefe gelieferten Stoffe ein unverhältnismäßig hoher ist.

Ich kann daher Bang[1]) nicht zustimmen, wenn er der Ansicht ist, daß diese Verhältnisse vernachlässigt werden können, sondern ich bin im Gegenteil der Meinung, daß sie weit kritischer als bisher in Betracht gezogen werden müssen.

---

[1]) I. Bang, Der Blutzucker, S. 15, Wiesbaden 1913.

Über formoltitrimetrische Untersuchungen an Eiweißkörpern. II.

Von

Friedrich Obermayer und Robert Willheim.

(Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium der k. k. Krankenanstalt Rudolfstiftung.)

(Eingegangen am 18. März 1913.)

In unserer ersten Mitteilung[1]) berichteten wir über Untersuchungen, die die Anwendung der Sörensenschen Formoltitration zum Zwecke der Konstitutionserforschung von nativen Eiweißkörpern zum Gegenstande hatten. Es war das erste Mal, daß die genannte Methodik zu diesem Zwecke herangezogen wurde. Seither war dies unseres Wissens nur in einer Arbeit der Fall, und zwar von seiten Kossels und Gawrilows[2]), allerdings ohne daß unserer Erwähnung getan wurde. In der von Kossel und Gawrilow ermittelten Tatsache, daß lysinfreie Eiweißkörper keinen formoltitrierbaren Stickstoff aufweisen, erblicken wir eine Stütze unserer seinerzeit ausgesprochenen Ansicht, daß es praktisch lediglich die endständigen Aminogruppen sind, die die Aciditätszunahme nach Zugabe von Formalin bewirken und damit eben die Formoltitration ermöglichen. Wir haben die durch Formoltitration ermittelte Anzahl endständiger Aminogruppen in Beziehung gesetzt zum Gesamtstickstoffgehalt und den Quotienten, den man erhält, wenn man die letztgenannte Größe durch die erstgenannte dividiert, als Aminoindex der betreffenden Eiweißkörper bezeichnet. Diese Zahl gibt an, auf wieviel Atome Gesamtstickstoff ein Atom endständigen Aminogruppenstickstoffes kommt. Wir hätten selbstverständlich den

[1]) Diese Zeitschr. 38, 331, 1912.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chem. 81, 274, 1912.

Gehalt an endständigen Aminogruppen auch in Prozenten des Gesamtstickstoffes angeben können, wir haben jedoch die geschilderte Bezeichnungsweise vorgezogen, weil sie nicht mit einer in dem betreffenden Proteinmolekül vielleicht gar nicht vorhandenen Anzahl von Stickstoffatomen rechnet, sondern einfach gleichsam eine kleinste Formel repräsentiert und so den tatsächlichen, im Molekül vorhandenen Verhältnissen näher kommt[1]).

Wir haben nun festgestellt, daß der Aminoindex der Globuline (Euglobulin und Pseudoglobulin) beim Pferd und bei einer Reihe anderer untersuchter Säugetiere beträchtlich höher ist als der des Albumins. Beim Pferd wurde der erstere Index durchschnittlich mit 20, der letztere durchschnittlich zu 13 ermittelt. Wir haben diese Verhältnisse an einer außerordentlich großen Anzahl von Pferde- und Rinderseren studiert, eine Ausnahme jedoch nie gesehen. Immer waren die Indices der beiden Globuline viel höher als der des Albumins. Allerdings die absoluten Werte zeigten, wie wir uns mit der Zeit überzeugten, beträchtliche Schwankungen. Der Index der Globuline in den beiden genannten Seren schwankte zwischen 23 und 18, der der Albumine zwischen 14 und 10, wobei auffallenderweise eine gewisse Gleichsinnigkeit in den Schwankungen bei allen drei Eiweißkörpern nicht zu verkennen war.

Nachdem wir in großen Untersuchungsreihen die hier herrschenden Verhältnisse hinlänglich festgestellt zu haben glaubten, wandten wir uns dem Studium einer neuen Tierspezies zu, die phylogenetisch weit von den genannten Säugern entfernt war, nämlich dem Haushuhn. Unser Plan war, zu untersuchen, ob es mit der in Rede stehenden Methodik nicht möglich wäre, chemisch definierte Unterschiede zwischen artverschiedenen Seren zu finden. Wir haben über die erhaltenen Resultate in der hiesigen Gesellschaft für Morphologie und Physiologie[2]) kurz berichtet. Es zeigte sich, daß auch beim Huhn der Index des Euglobulins bedeutend höher liegt als der des Albumins, daß es sich aber mit dem Pseudoglobulin anders ver-

---

[1]) Es ist natürlich ganz leicht, unseren Aminoindex in Prozenten des Gesamtstickstoffes umzurechnen, man braucht lediglich 100 durch die betreffende Zahl zu dividieren.

[2]) Centralbl. f. Physiol. **26**. Nr. 20.

hält. Sein Index liegt im Gegensatz zu Pferd und Rind nicht etwa in der Höhe des Euglobulins, sondern viel tiefer, mehr in der Nähe des Albuminindex. Aber auch hier mußten wir bei der Anlage großer Versuchsreihen bald erkennen, daß die genannten Gesetzmäßigkeiten mit Bezug auf die gegenseitigen Größenverhältnisse der Indices im Serum eines Tieres zwar immer gewahrt blieben, daß aber die bei verschiedenen Tieren ermittelten absoluten Werte ganz beträchtliche Differenzen zeigten. So bewegte sich zwar das Euglobulin allerdings in einer größeren Reihe von Fällen um 22, doch wurden, namentlich in späteren Untersuchungen, nicht wenige Fälle mit einem Index bis zu 27, vereinzelte mit einem solchen über 30 beobachtet. Wenn es also auch gelungen war, mit Hilfe unserer Methodik einen chemisch definierten Unterschied zwischen dem Serum von Pferd und Rind einerseits und dem vom Huhn andererseits in der Größenlage des Pseudoglobulinindex zu finden, so befriedigte dieses Resultat doch nicht vollends, eben wegen des Umstandes, daß die absoluten Werte überall, ganz besonders aber beim Huhn, ganz beträchtliche Schwankungen aufwiesen.

Wir stellten uns daher die Aufgabe, den Gründen dieses sonderbaren Verhaltens nachzuforschen. Sie konnten mehrfacher Art sein. Abgesehen von technischen Mängeln in der Darstellung der Fraktionen, konnte ja erstens einmal tatsächlich eine Inkonstanz in der Größe des Aminoindex bei den drei Fraktionen vorliegen. Dann aber war es auch möglich, daß die Differenzen darin ihren Grund hatten, daß die drei Fraktionen gar keine einheitlichen Eiweißkörper sind, sondern Gemische aus einer größeren Anzahl von Unterfraktionen. Wenn sich nun diese supponierten Unterfraktionen in ihrem Index voneinander beträchtlich unterschieden, dann freilich war die stärkere oder schwächere Beteiligung einer solchen Unterfraktion, an der Bildung einer der drei großen Hauptfraktionen wohl geeignet, die rätselhaften Differenzen zwanglos zu erklären. Wir haben daher versucht, in der soeben skizzierten Richtung, d. h. durch die Untersuchung von Unterfraktionen auf formoltitrimetrischem Wege Unterschiede zu finden. Die Annahme, daß die durch Drittel-, Halb- und Ganzsättigung mit Ammonsulfat aus Serum darstellbaren Eiweißfraktionen keine einheit-

lichen Körper repräsentieren, sondern noch weiter unterteilbar sind, ist nichts weniger als neu.

Auf den nicht einheitlichen Charakter des Albumins schloß schon Halliburton[1]), als er darin drei, resp. zwei Körper von verschiedenen Koagulationspunkten fand. Hougardy[2]) allerdings, dem es nicht gelang, diese Körper durch fraktionierte Ammoniumsulfatfällung zu trennen, vermochte sich dieser Schlußfolgerung nicht anzuschließen. Im Sinne einer Zusammensetzung des Serumalbumins aus zwei Körpern sprach weiter auch das von Maximowitsch[3]) gefundene differente Verhalten beim Krystallisieren.

Dann wurde von Oppenheimer[4]) darauf hingewiesen, daß sich das Albumin in zwei Unterfraktionen teilen lasse, von denen die eine schon bei $66^{2}/_{3}\,^{0}/_{0}$ Ammoniumsulfat ausgeschieden wird, während die andere hierzu erst der Ganzsättigung bedarf. Oppenheimer hielt es jedoch nicht für gerechtfertigt, aus diesem Verhalten allein eine Uneinheitlichkeit der Albuminfraktion anzunehmen. Für eine Unterteilung der Albuminfraktion trat dann auch Reale[5]) ein, der seiner Fraktionierung die Löslichkeit resp. Unlöslichkeit in gesättigter essigsaurer Kochsalz- oder Magnesiumsulfatlösung zugrunde legte.

Was die Globuline anlangt, so wurde zuerst von der Hofmeisterschen Schule aus dem Komplexe des Euglobulins durch Aussalzen mit $28\,^{0}/_{0}$ Ammoniumsulfat jener Körper, der dem Fibringlobulin Hammarstens entspricht, abgetrennt. Später wurde durch Markus[6]) und dann besonders durch Freund und Joachim[7]) aus dem verschiedenen Verhalten gegenüber der Dialyse die Existenz mehrere Globuline angenommen. Unterfraktionierungen mit Hilfe von Ammoniumsulfat haben Porges und Spiro[8]) und dann ferner Rostoski[9]) vorgenommen.

---

[1]) Journ. of Physiol. **5**, 152, 1884; **7**, 319, 1886.

[2]) Bull. Acad. royal Belgique **1900**, 401 bis 413. — Chem. Centralbl. **2**, 682, 1900.

[3]) Journ. d. russ. physik.-chem. Ges. **6**, 460, 1901. — Malys Jahrb. **31**.

[4]) Verhandl. d. Berl. physiol. Ges. **1902**.

[5]) Nuova Riv. clinico-terapeutica **1905**, Nr. 12.

[6]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**, 559, 1899.

[7]) Zeitschr. f. phys. Chem. **36**, 1902.

[8]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **3**, 277.

[9]) Münch. med. Wochenschr. **1902**, 740.

Die ersteren salzten nacheinander mit 30%, 37% und 44% Ammoniumsulfat aus, der letztere teilte das Pseudoglobulin in drei weitere Fraktionen, deren Aussalzungsgrenzen zum Teile ineinander übergriffen. Von allen diesen Momenten, die gegen die Einheitlichkeit der großen Fraktionen der Serumeiweißkörper ins Treffen geführt wurden, konnten für uns natürlich nur jene in Betracht kommen, die sicherlich ohne Veränderung der betreffenden Eiweißkörper zu einer Isolierung der hypothetischen Teilfraktionen führten.

Dementsprechend mußten wir von einer Differenzierung durch verschiedene Koagulationspunkte absehen und uns darauf beschränken, Euglobulin, Pseudoglobulin und Albumin durch feiner abgestufte Ammoniumsulfatfraktionierung weiter zu zerlegen. Wir gingen derart vor, daß wir das wenigstens dreifach verdünnte Serum auf einen Gehalt an gesättigter Ammonsulfatlösung von 25% brachten und so das Fibringlobulin abschieden. Wir wählten diese Salzkonzentration und nicht wie sonst üblich 28%, weil uns darum zu tun war, diesen leichtest aussalzbaren Serumeiweißkörper möglichst rein zu erhalten, und weil nach der grundlegenden Arbeit von Reye[1]) die obere Aussalzungsgrenze des Fibrinogens, die auch für das Fibringlobulin gilt, zwischen 25 und 28% schwankt. Hierauf brachten wir nach Porges und Spiro den Ammoniumsulfatgehalt auf 30%, 37% und 44%, fällten dann noch mit 50% und teilten das Albumin nach Oppenheimer noch in den bei 66% und schließlich bei Ganzsättigung fallenden Körper. Diese Ausfällungsgrenzen sind für unsere Zwecke allerdings nicht sehr praktisch, weil die zwischen 30% und 37% gelegene Fraktion sowohl Anteile der Euglobulinfraktion als auch solche der Pseudoglobulinfraktion in sich schließt, somit die erhaltenen Werte mit den Aminoindices der ganzen Euglobulin- resp. Pseudoglobulinfraktion nicht leicht verglichen werden können.

Jede der so gewonnenen sieben Fraktionen wurde abfiltriert, abgepreßt, dialysiert und entweder sofort oder, wenn bei der Überprüfung die Fällungsgrenzen nicht stimmten, nach erfolgter Umfällung formoltitriert, und zwar ganz in der Weise, wie in unserer ersten Mitteilung beschrieben.

[1]) Dissert., Straßburg 1898.

Eine kleine methodische Modifikation bestand darin, daß wir jetzt einfach in allen Fällen, wo zur Formoltitration 0,7 bis 1,5 ccm $^{n}/_{4}$-NaOH von der Phenolphthaleinneutralität an verbraucht wurden, den Unterschied zwischen der Phenolphthaleinneutralität und der den eigentlichen Ausgangspunkt der Titration bildenden Lackmusneutralität mit 0,1 ccm $^{n}/_{4}$-HCl in Rechnung setzten. Wir haben uns von der Richtigkeit dieses Wertes in einer außerordentlich großen Zahl von Titrationen überzeugt. Diese unsere Festsetzung muß jedoch hier ausdrücklich betont werden, weil in einigen wenigen Fällen der Unterschied der beiden Neutralitäten, trotzdem der Titrierwert innerhalb der besagten Grenzen lag, 0,1 ccm $^{n}/_{4}$-HCl überschritt. In diesen Fällen nun wich der gewonnene Index stark von den sonst bei der gleichen Fraktion beobachteten Werten ab, wurde ihnen jedoch gleich, wenn die Differenz der Neutralitäten willkürlich mit 0,1 ccm angenommen wurde, so daß es den Anschein hat, daß die Differenz zwischen den beiden Neutralitäten hier außer von den sonst dafür allein maßgebenden freien Aminogruppen auch noch von anderen Faktoren bedingt war.

Wir haben nun noch folgendes über die bei unseren Untersuchungsobjekten erzielte Reinheit zu bemerken. Eine absolute Reinheit von solchem Grade, daß auch nicht Spuren von bei geringeren resp. höheren Ammonsulfatkonzentrationen fallenden Körpern der betreffenden Fraktion beigemischt gewesen wären, war häufig, und zwar insbesondere im Globulinbereich nicht zu erzielen. Unser Bestreben mußte es hier sein, diesen Fehler möglichst klein zu gestalten. Das geschah in der Weise, daß die betreffenden Sera vor der Fraktionierung mit der mehrfachen Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wurden. Weiterhin wurden unreine Fraktionen, wie schon erwähnt, durch Umfällen gereinigt. Es muß jedoch hervorgehoben werden, daß man mit diesem Mittel nicht allzu verschwenderisch wirtschaften darf, weil häufige Umfällungen nach unseren Erfahrungen zu Verschiebungen im Eiweißmolekül zu führen scheinen, die sich in einer Änderung des Aminoindex ausdrücken. Das gilt namentlich für die Globuline, deren wasserunlöslicher Anteil meist vor der Wiederaussalzung in Natriumcarbonat gelöst werden mußte, ein Eingriff, der in Hinsicht auf die in Rede stehenden konstitutionellen Eigentümlichkeiten nicht völlig irrelevant zu sein scheint, ganz abgesehen davon, daß die Aussalzungsgrenze ja für annähernd neutrale Reaktion gilt.

Bevor wir nun auf die erzielten Resultate eingehen, wollen wir kritisch beleuchten, was sie uns sagen können.

Wir haben die drei großen Fraktionen: Albumin, Euglobulin und Pseudoglobulin, durch Ammoniumsulfatfällungen weiter zerlegt, um nachzusehen, ob diese Teilfraktionen hinsichtlich ihrer Aminoindexe untereinander verschieden sind. Ist dies der Fall, dann ist die Uneinheitlichkeit der betreffenden Fraktionen erwiesen und die früher von uns beobachtete Inkonstanz im Aminoindex dieser großen Fraktionen könnte in einer von Fall zu Fall verschieden starken Beteiligung der einzelnen Unterfraktionen an ihrer Bildung ihren Grund haben. Finden wir aber keine Unterschiede im Aminoindex zwischen den einzelnen Unterfraktionen, so ist damit nichts gewonnen. Ein Schluß auf die Einheitlichkeit der großen Fraktionen ist daraus durchaus ungerechtfertigt, weil erstens die Unterschiede zwischen den Teilkörpern ja nicht unbedingt sich in einem verschiedenen Aminoindex manifestieren müssen, und weil zweitens die von uns gewählte Methode der Darstellung der Teilkörper mit Hilfe von Ammoniumsulfat vielleicht gar nicht zum Ziele führt, hierzu vielmehr ein anderer Weg, etwa der der Isolierung durch andere Salze oder durch verschiedene Koagulationstemperaturen, erforderlich sein könnte.

Wir gelangen nunmehr zur Besprechung der am Rinderserum gewonnenen Resultate. Diese Untersuchungen erstrecken sich auf 20 Rinderseren. Mit Rücksicht auf den Umstand, daß für unsere Fragestellung die einzelnen ermittelten Indexwerte ebenso wie ihr Durchschnittswert belanglos sind, es vielmehr zum Zweck des Beweises der Existenz von Unterfraktionen einzig darauf ankommt, ob der niedrigste und höchste im Laufe einer größeren Untersuchungsreihe für eine bestimmte Unterfraktion ermittelte Wert mit den Grenzwerten einer anderen nicht kollidiert, haben wir davon abgesehen, alle gewonnenen Zahlen hier wiederzugeben, beschränken uns vielmehr darauf, in der untenstehenden Tabelle die Grenzen, zwischen denen sich der Aminoindex der betreffenden Teilfraktionen im Laufe aller Untersuchungen bewegte, anzugeben. In der ersten Reihe steht der Körper mit der oberen Aussalzungsgrenze von 25, also das Fibringlobulin, in der zweiten der zwischen 25 % und 30 % fallende Anteil des Euglobulins, in der dritten der Rest der Euglobulinfraktion und ein geringer Teil dessen, was wir sonst schon zum Pseudoglobulin rechnen.

Tabelle I.

Rinderserum.

Fraktion (zur Fällung verwendete Menge gesätt. Ammonsulfatlös., ausgedrückt in Vol.-%)	Niedrigster beobachteter Aminoindex	Höchster beobachteter Aminoindex
25	18,1	19,5
25—30	20,2	23,0
30—37	20,0	22,5
37—44	19,8	21,4
44—50	15,0	17,2
50—66	13,9	15,1
66—Sättigung	10,5	12,0

Bei dem erstgenannten Körper bewegten sich die für den Aminoindex ermittelten Zahlen zwischen 18,1 und 19,5, bei den beiden folgenden Fraktionen etwa zwischen 20 und 23. Der Unterschied ist demnach ein nur geringer.

Das Pseudoglobulin zerfällt, von dem in der 37%-Fraktion enthaltenen Teile abgesehen, in zwei Fraktionen, in die zwischen 37%- und 44%-Ammonsulfatsättigung liegende und den Rest, der bei Halbsättigung ausgesalzen wird. Der Unterschied zwischen beiden ist sehr evident und über Versuchsfehler erhaben. Während der bei 44% fallende Körper sich in seinem Aminoindex (19,8 bis 21,4) nicht von den Euglobulinunterfraktionen unterscheidet, ist der Index der bei 50% fallenden Fraktion viel geringer, nämlich 15 bis 17,2. Und ähnlich sind die Differenzen zwischen den beiden Fraktionen des Albumins. Der bei 66% fallende Anteil lehnt sich mit seinem Index (13,9 bis 15,1) hart an die 44%- bis 50%-Fraktion des Pseudoglobulins an, der zwischen 66% und Ganzsättigung fallende Anteil hat einen niedrigeren Index, der zwischen 10,5 und 12 schwankt. Man sieht also, daß es uns in der Tat gelungen ist, mit Hilfe der formoltitrimetrischen Ermittelung der endständigen Aminogruppen Unterschiede zwischen den einzelnen Unterfraktionen zu finden, und so auf diesem chemischen Wege den Beweis für die Uneinheitlichkeit der großen Fraktionen zu liefern.

Auffallenderweise ist es uns jedoch, trotzdem wir diesem Punkte ganz besondere Aufmerksamkeit schenkten, nicht gelungen, einen einwandfreien Unterschied zwischen dem wasserlöslichen und wasserunlöslichen Anteil der untersuchten Globuline zu finden. Diese speziell von Freund und Joachim betonte Uneinheitlichkeit der Globuline muß daher wohl auf andere Differenzen als auf solche im Aminoindex zurückgeführt werden.

Bemerkenswert erscheint ferner, daß die einzelnen Fraktionen, nach steigenden Aussalzungsgrenzen angeordnet, von der 25%- bis 30%-Fraktion angefangen, in ihrem Aminoindex sinken oder gleichbleiben, doch niemals steigen. Worauf dieses Verhalten zurückzuführen ist, ob in der genannten Reihenfolge vielleicht die Kompliziertheit der betreffenden Proteinmoleküle abnimmt, ist natürlich nicht zu sagen.

Für uns steht also fest, daß durch diese Befunde die Uneinheitlichkeit der großen Fraktionen erwiesen ist und daß es weiterhin möglich, ja bis zu einem gewissen Grade wahrscheinlich ist, daß auf diese Zusammensetzung der Fraktionen aus mehreren verschiedenen Anteilen auch die Inkonstanz ihres Aminoindex zurückzuführen ist. Denn es ist ohne weiteres klar, daß, wenn in der großen Euglobulinfraktion, die ja dadurch gewonnen wird, daß Serum auf einen Gehalt von ca. 33% gebracht wird, der schon bei 25% fallende Anteil seiner Menge nach überwiegt, der Index niedriger ausfallen wird, als wenn der restliche prävaliert. Gleiche Überlegungen gelten für das Pseudoglobulin und Albumin. In dem letzteren z. B. rückt der bei 66% fallende Anteil, dessen Index zwischen 13,9 und 15,1 liegt, den Index der Gesamtfraktion naturgemäß in die Höhe, während der erst bei Ganzsättigung fallende Rest, dessen Index zwischen 10,5 und 12 schwankt, den gegenteiligen Einfluß hat.

Wie man sofort sieht, sind auch die Indices der Unterfraktionen noch keineswegs konstante Größen, sondern zeigen Schwankungen, wobei die beobachteten Grenzen, wenigstens bei einzelnen Fraktionen, ziemlich weit auseinander liegen. Wie ist dieses Verhalten zu erklären? Zunächst liegt dies an methodischen Mängeln, indem absolut reine Fraktionen, wie dies schon betont wurde, nicht zu erreichen waren; Verunreinigungen mit

Anteilen früher oder später fallender Fraktionen sind aber nicht irrelevant. Eine zweite Möglichkeit ist, daß die Konstitution dieser Körper in der Tat Schwankungen aufweist. Wir möchten betonen, daß wir dies in gewissem Grade für wahrscheinlich halten, und zwar deswegen, weil, wie schon bemerkt, die besagten Schwankungen eine gewisse, nicht zu verkennende Gleichsinnigkeit zeigten, in dem Sinne, daß meistens alle Fraktionen eines Serums höhere resp. tiefere Werte in ihren Indices im Vergleiche zu anderen Seren aufweisen. Ein drittes Moment, das in Betracht kommt, ist die Möglichkeit, daß auch die untersuchten Unterfraktionen keine einheitlichen Körper darstellen, sondern noch weiter unterteilbar sind. Die so erhaltenen Teilkörper würden dann natürlich in der früher ausgeführten Weise die Schwankungen der Indices unserer Unterfraktionen erklären. Die Möglichkeit dieser weiteren Uneinheitlichkeit kann nichts Absonderliches an sich haben, wenn man bedenkt, daß wir uns zur Darstellung der Unterfraktionen bloß eines einzigen Gesichtspunktes — der Aussalzbarkeit durch Ammoniumsulfat — bedienten. Nun gibt es solcher ja mehrere. Vielleicht ließe sich mit Hilfe anderer Kriterien — etwa der Verschiedenheit der Koagulationspunkte oder des Verhaltens gegenüber der Krystallisation — noch manche Fraktion in Teile zerlegen, die in ihrem Index voneinander merklich differieren. Schließlich darf auch nicht übersehen werden, daß es wenigstens theoretisch nicht ausgeschlossen erscheint, dieses Ziel durch noch feinere Abstufung der Ammoniumsulfatkonzentrationen zu erreichen. Daß sich diese theoretische Möglichkeit in praxi als Utopie erweisen muß, wird weiter unten auseinandergesetzt werden. Wir möchten jetzt nur noch betonen, daß wir bei unseren Resultaten hauptsächlich darauf Gewicht legen, daß es uns gelang, über die Fehlergrenzen erhabene Unterschiede zwischen den Teilfraktionen zu finden, daß wir jedoch nicht die gleiche Bedeutung den von uns ermittelten absoluten Zahlenwerten beimessen. Dies namentlich in Rücksicht auf die bei Eiweißkörpern wohl noch nicht völlig geklärte Indicatorenfrage und weiterhin in Rücksicht auf den Umstand, daß die Formoltitration nativer Eiweißkörper und speziell das Erkennen des Titrationsendpunktes in manchen Fällen Übung und Erfahrung erfordert, so daß

dann, wie wir uns häufig überzeugen konnten, die Frage, ob bei einem bestimmten Punkte die Titration beendigt ist, von verschieden geübten Untersuchern verschieden beantwortet wird. Betragen auch solche Differenzen fast nie mehr als 0,1 ccm $^{n}/_{4}$-Lauge, so gibt dies doch bei einem Gesamttitrationswert von ca. 1 ccm im Index häufig einen Ausschlag von 1 bis 2 Einheiten. Es ist daher der absolute Wert der ermittelten Zahlen nicht ganz unabhängig von der individuellen Beurteilungsfähigkeit des Untersuchers. Für die relativen Größenverhältnisse der Indices ist dieser Umstand jedoch belanglos, weil derartige Differenzen ja alle Fraktionen in annähernd gleicher Weise betreffen.

Die Feststellungen, die wir in Hinsicht auf die Größe des Index bei den einzelnen Unterfraktionen der Eiweißkörper des Rinderserums gemacht hatten, setzten uns in Stand, uns abermals dem Problem zuzuwenden, auf diesem Wege chemisch definierte Unterschiede zwischen artverschiedenen Seren zu suchen. Diesmal waren unsere Aussichten von vornherein viel günstigere, als seiner Zeit, wo wir nur mit den drei großen Fraktionen arbeiteten, weil die Schwankungen, mit denen wir bei den Serum-Eiweißkörpern einer Spezies rechnen mußten, verringert waren und weil mit der Zahl der untersuchten Teilkörper auch die Aussicht wuchs, Unterschiede zu finden. Wie in unseren früheren diesfälligen Untersuchungen studierten wir als Gegenstück zum Rinderserum Hühnerserum. Was die Gewinnung dieses Serums anlangt, so wurde zu einer Darstellung das Blut von etwa 150 Hühnern verwendet. Nach Abgießen des spontan abgeschiedenen Serums wurde der Blutkuchen in kleine Stücke zerschnitten, auf ausgespannte Tücher gelegt, so daß jetzt noch eine große Menge Serum, allerdings stark untermischt mit corpusculären Elementen, durchkolierte und in darunter aufgestellten Schalen aufgefangen wurde. Von den corpusculären Elementen durch Zentrifugieren getrennt, wurde dann das Serum in der gleichen Weise wie das Rinderserum fraktioniert.

Von solchen Darstellungen gelangten zehn zur Untersuchung. Wir lassen gleich die erhaltenen Grenzwerte für den Aminoindex der einzelnen Fraktionen folgen.

Tabelle II.
Hühnerserum.

Fraktion (zur Fällung verwendete Menge gesätt. Ammonsulfatlös. ausgedrückt in Vol.-%)	Niedrigster beobachteter Aminoindex	Höchster beobachteter Aminoindex
—25	30,0	35,0
25—30	26,7	30,2
30—37	21,5	26,0
37—44	19,4	20,8
44—50	15,1	17,0
50—66	15,2	17,1
66—Sättigung	10,2	12,8

Zuvörderst ist auch hier leicht ersichtlich, daß unsere Methodik den Nachweis der Uneinheitlichkeit der großen Fraktionen erlaubt, indem sich auch hier prägnante Unterschiede zwischen den beiden Fraktionen des Pseudoglobulins (44 und 50%) und den beiden Fraktionen des Albumins (66% und Ganzsättigung) finden, während analog den Verhältnissen beim Rind innerhalb des vom Fibringlobulin isolierten Euglobulins eine derart scharfe Differenzierung nicht statthat. Immerhin scheint beim Huhn die formoltitrimetrische Untersuchung auch für die Uneinheitlichkeit des Euglobulins Anhaltspunkte zu liefern, indem der Aminoindex der 30%-Fraktion (26,7 bis 30,2) wohl höher liegt als der der 37%-Fraktion (21,5 bis 26).

Weiterhin fällt auch hier der Umstand auf, daß die Indices mit der zunehmend schwereren Aussalzbarkeit der betreffenden Eiweißkörper an Größe abnehmen, und daß womöglich noch viel mehr als beim Rind die Indices keine konstanten Werte liefern, sondern innerhalb zum Teil nicht unbeträchtlich weit auseinanderliegender Grenzen schwanken. Natürlich gilt in bezug auf Kritik und Deutung dieser Tatsache das schon beim Rind Gesagte. Und endlich zu der Frage, ob unser Weg einen Unterschied zwischen Rinder- und Hühnerserum ergeben hat. Man sieht auf den ersten Blick, daß dies in eklatantem Maße der Fall ist, indem speziell die Fraktionen im Gebiete des Euglobulins gewaltig von den entsprechenden Fraktionen beim Rind differieren. Am auffallendsten liegen diese Verhältnisse beim Fibringlobulin. Denn der Aminoindex dieser Fraktion liegt beim Rind zwischen 18,1 und 19,5, beim Huhn zwischen

30 und 35. Und ebenso ist auch der Index der mit 30 % Ammoniumsulfat ausgesalzenen Fraktion viel höher (27 bis 30,2) als der entsprechende beim Rind (20,2 bis 23), während der bei 37 % fallende Anteil mit einem Index zwischen 21,5 und 26,0 sich nicht mehr einwandfrei von dem beim Rind ermittelten (20 bis 22,5) unterscheidet und die folgenden Fraktionen sich bei beiden Spezies mehr oder weniger gleich verhalten, vielleicht mit Ausnahme der 50 %-Fraktion des Albumins, die beim Huhn höhere Indexwerte aufweist als beim Rind.

Es ist also, wie man sieht, in der Tat gelungen, auf formoltitrimetrischem Wege einen evidenten Unterschied zwischen dem Rinder- und dem Hühnerserum zu ermitteln. Dieser ist allerdings auf die Körper des Euglobulins beschränkt, ist jedoch hier sehr prägnant und weit über die Fehlergrenze erhaben. Es ist dies unseres Wissens das erste Mal, daß zwischen den Serumeiweißkörpern artverschiedener Sera konstitionelle Differenzen ermittelt wurden.

Wie eingangs der Arbeit bemerkt, haben wir schon früher zwischen den beiden Seren einen Unterschied gefunden, darin bestehend, daß der Index der ganzen Pseudoglobulinfraktion beim Huhn im Gegensatz zum Rind nicht in der Höhe des Euglobulinindex liegt, sondern viel tiefer, mehr gegen den Albuminindex zu. Der aus einer sehr großen Reihe von Untersuchungen errechnete Durchschnittswert beträgt 15. (Ein in älteren Bestimmungen gefundener Wert 12 war später nicht mehr reproduzierbar und hing möglicherweise mit akzidentellen Umständen, wie Verunreinigung oder leichter Zersetzung, zusammen.) Wie steht es nun mit diesem Unterschied, erweist er sich nach unseren jetzigen Untersuchungen als konstitioneller Art? Nein, denn die an Unterfraktionen erhobenen Befunde lehren ja, daß die beiden Teilfraktionen der Pseudoglobulinfraktion, der bei 44 % und der bei 50 % fallende Körper, sich bei beiden Spezies in Hinsicht auf den Aminoindex annähernd gleich verhalten. Dieser bewegt sich bei der ersten Fraktion etwa zwischen 19 und 21, bei der zweiten zwischen 15 und 17. Und wenn nun der Index des ganzen Pseudoglobulins beim Rind 20, beim Huhn ca. 15 beträgt, so besagt das eben nichts anderes, als daß beim Rind die erste, beim Huhn

die zweite Teilfraktion des Pseudoglobulins an Menge so bedeutend überwiegt, daß sie ihren Index im Indexwert der ganzen Fraktion zum Ausdruck bringt. Der von uns seinerzeit ermittelte Unterschied ist also nicht qualitativer, sondern rein quantitativer Natur. Freilich wenn man sehr streng sein wollte, müßte man auch die Möglichkeit zugeben, daß die von uns beim Studium der Euglobulinunterfraktionen gefundenen, oben auseinandergesetzten Unterschiede auch bloß quantitativer Natur sind. Man müßte dann freilich annehmen, daß auch beim Rind innerhalb der 25%-Fraktion ein Körper vorhanden ist, der den für das Hühnerfibringlobulin charakteristischen hohen Index von 30 bis 35 besitzt, aber an Menge so gering ist, daß er von dem Rest, der einen viel niedrigeren Index hat, völlig verdeckt wird. Dieser Rest müßte wieder beim Huhn als in völliger Minorität vorhanden angenommen werden. Eine derartige, jeder tatsächlichen Grundlage entbehrende Annahme erscheint uns jedoch außerordentlich gezwungen und kann wohl keinerlei Wahrscheinlichkeit beanspruchen.

Es drängt sich nun die Frage auf, warum diese Unterschiede zwischen Rind und Huhn nicht schon früher beim Studium der ganzen Euglobulinfraktion evident wurden. Die Antwort auf diese Frage hat sich, wie wir meinen, in den Bahnen unserer soeben dargelegten Überlegungen zu bewegen. So lange nämlich die Fraktionen in toto formoltitrimetrisch untersucht wurden, lieferten sie beim Huhn, in einer Anzahl von Fällen wenigstens, einen Aminoindex von ca. 22, der sich also nicht sehr stark von dem beim Rind ermittelten unterschied. Dies rührte aber, wie wir jetzt, wo uns die Indices der Unterfraktionen vorliegen, wohl annehmen müssen, lediglich daher, daß bei der Ausfällung mit $33^1/_3$% gesättigter Ammoniumsulfatlösung so viel von der Fraktion, die wir später zwischen 30 und 37% abgegrenzt haben, ausgesalzen wurde, daß die so exzessiv hohen Werte der allerdings spärlichen 25%-Fraktion (Fibringlobulin) und der gleichfalls dürftigen 30%-Fraktion von jenem Körper mit niedrigerem Index gleichsam komplett majorisiert wurden und im Index der ganzen Fraktion nicht zum Ausdruck kommen konnten. Dies gilt natürlich nur für die Fälle, wo der Euglobulinindex den genannten niedrigen Wert aufwies. Wir haben aber außerdem und namentlich bei

späteren Untersuchungen beträchtlich höhere Werte — bis zu 30 und darüber — erhalten, das wären also Sera, bei denen die Mengenverhältnisse zwischen den Unterfraktionen des Euglobulins eben wieder zugunsten des Fibringlobulins und der 30%-Fraktion verschoben waren. Über die Ursache dieser Verschiebungen vermögen wir nichts anzugeben, vielleicht hängen sie mit der Ernährung zusammen.

War es nun gelungen, einen chemischen Unterschied zwischen zwei artverschiedenen Seren zu finden, so ergab sich ganz von selbst die Fragestellung, ob die ermittelten Eigentümlichkeiten ein ganz zufälliges und oberflächliches, mit der Stellung der untersuchten Arten im Tierreich in keinerlei Beziehung befindliches Faktum repräsentieren, oder ob sich im Gegenteile verwandte Arten auch durch ähnliche Indexwerte der Serumeiweißkörper auszeichnen. Um in diese Frage Licht zu bringen, wurden die Untersuchungen auf einen weiteren Säuger, nämlich das Pferd, und einen weiteren Vogel, nämlich die Gans, ausgedehnt. Wir bringen hier die gefundenen Werte noch nicht, weil die Zahl der untersuchten Fälle eine noch zu geringe ist, als daß wir gleich, wie bei Huhn und Rind, mit einiger Gewißheit die maximale Schwankungsbreite der Indexwerte schon feststellen könnten. Aber darauf kommt es ja hier gar nicht an, wichtig erscheint uns vielmehr, daß die beim Pferd im Bereiche der Euglobulinfraktion (Aussalzung mit 25%, 30% und 36% gesättigter Ammoniumsulfatlösung) gefundenen Indexwerte durchwegs innerhalb der beim Rind für die entsprechenden Fraktionen beobachteten Grenzen liegen und daß analog das Serum der Gans die gleiche Übereinstimmung mit dem des Huhnes aufweist. Das ist nun eine Tatsache, die es durchaus möglich erscheinen läßt, daß der Aminoindex nicht ein bloß äußerliches, im übrigen nichtssagendes Attribut der Serumeiweißkörper darstellt, sondern daß aus seiner Kenntnis zugleich die Zugehörigkeit der das Serum liefernden Tiere zu dieser oder jener Klasse erhellen dürfte, eine Differenzierung, die an Serumeiweißkörpern bis jetzt wohl nur mit Hilfe biologischer Methoden möglich war.

Es erscheint uns hier geboten, kritisch zu überdenken,

welche Resultate weitere formoltitrimetrische Untersuchungen an Eiweißkörpern in den skizzierten Richtungen wohl noch zeitigen dürften. Und da muß gesagt werden, daß außerordentlich große Erwartungen durchaus nicht am Platze sind, denn die Grenzen der Leistungsfähigkeit der Methode sind etwas eng gesteckt.

Was vor allem die Frage einer weiteren Differenzierung der Eiweißfraktionen anlangt, so wurde diese schon früher berührt. Ein solcher Versuch erscheint auf dem von uns gegangenen Wege ziemlich aussichtslos, weil schon die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Unterfraktionen, trotz größter Sorgfalt, keineswegs immer ideal rein dargestellt werden konnten. Bei einer noch detaillierteren Unterfraktionierung würden die Verunreinigungen und die damit verbundenen Fehler sicherlich noch viel bedeutender sein. Dieser Umstand zieht jedoch konsequenterweise auch das zweite von uns berührte Problem in Mitleidenschaft. Die Frage, ob es auf formoltitrimetrischem Wege gelingen werde, weitere chemische Unterschiede zwischen artverschiedenen Seren zu finden, ob es im speziellen möglich sein werde, innerhalb der einzelnen Klassen oder gar Arten zu unterscheiden, möchten wir schon deswegen mit größter Reserve beantworten, weil unseres Erachtens die Lösung dieser Probleme eben am besten durch eine noch detailliertere Differenzierung der Eiweißkörper gefördert werden könnte. Dies stößt aber, wie gesagt, auf Schwierigkeiten. Verbleibt man jedoch bei dem von uns benutzten Grade der Unterfraktionierung, dann wird man mit Rücksicht auf die damit verbundene, immerhin beträchtliche Schwankungsbreite in den Indexwerten nur verhältnismäßig große Differenzen im Sinne sicherer chemischer Unterschiede verwerten können.

Diese Einschränkung schließt es jedoch keineswegs aus, daß die weitere Benutzung dieser einfachen Methode bei derartigen Eiweißstudien noch zu zahlreichen neuartigen und interessanten Ergebnissen führen kann.

Die Ergebnisse unserer beiden Mitteilungen zusammenfassend, wäre zu sagen:

Mit Hilfe der Sörensenschen Formoltitration gelingt es, die endständigen Aminogruppen in einer bestimmten Eiweißmenge zu titrieren.

Den Quotienten, der durch Division des Gesamtstickstoffgehaltes durch die Zahl der endständigen NH_2-Gruppen gewonnen wird, und der also angibt, auf wieviel Gesamtstickstoffatome eine endständige Aminogruppe kommt, nennen wir Aminoindex.

Der Aminoindex ist beim Euglobulin (Mittelwert etwa 21,5) immer viel höher als beim Albumin (Mittelwert etwa 12).

Bei den Säugern gilt dies auch für das Pseudoglobulin, dessen Index hier immer etwa die Größenlage des Euglobulinindex aufweist, während beim Huhn der Index des Pseudoglobulins (Mittelwert etwa 15) nicht so stark vom Albumin differiert.

Es gelingt mit Hilfe dieses neuen Kriteriums zu zeigen, daß die großen Eiweißfraktionen keine einheitlichen Körper sind, und daß sich insbesondere das Pseudoglobulin durch eine Aussalzung bei 44% gesättigter Amonsulfatlösung und das Albumin durch eine solche bei 66% in zwei Teile zerlegen lassen, die in ihrem Aminoindex wesentlich differieren.

Die Untersuchung derartiger Teilfraktionen führte zum erstenmal zur Kenntnis eines konstitutionellen Unterschiedes zwischen zwei artverschiedenen Serumeiweißkörpern, indem der Aminoindex der bei 25% und der bei 30% gesättigter Ammoniumsulfatlösung ausgesalzenen Fraktionen beim Huhn viel höher (Mittelwerte etwa 32,5 resp. 28,5) gefunden wurde, als die entsprechenden Werte beim Rind (Mittelwerte etwa 19 resp. 21,5).

Da sich das Pferd genau so verhält wie das Rind, die Gans genau so wie das Huhn, ist die Möglichkeit gegeben, daß es sich bei den besagten Unterschieden um Differenzen handelt, die mit der Zugehörigkeit der untersuchten Spezies zu bestimmten Tierklassen zusammenhängen.

Ein einfacher Extraktionsapparat zur Extraktion von festen und flüssigen Stoffen.

Von

Hans Aron.

(Aus der Königl. Universitäts-Kinderklinik in Breslau.)

(Eingegangen am 22. März 1913.)

Mit 2 Figuren im Text.

Seit dem vorigen Sommer benutzen wir im Laboratorium Extraktionsapparate, die sich im Laufe der Monate als recht brauchbar erwiesen haben und vor den üblichen Konstruktionen manche Vorteile bieten.

Der Apparat besteht aus einem Kolben mit weitem Hals und einem auf diesen Kolben mit Hilfe eines Schliffes aufsetzbaren Mantelrohr, das sich nach oben verjüngt und zur Verbindung mit dem Innenrohr eines Kühlers in ein kurzes Glasrohr von entsprechendem Durchmesser ausläuft.

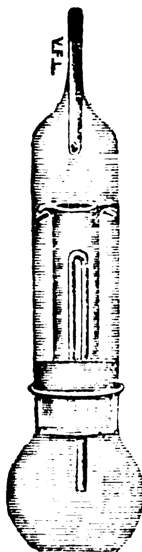


Fig. 1.

Handelt es sich um die Extraktion fester Stoffe, so wird ein Glaseinsatz mit seitlicher Heberschleife verwandt, in den die mit dem Extraktionsgut gefüllte Extraktionshülse eingesetzt wird. Dieser Glaseinsatz wird in das Mantelrohr von der unteren breiten Schliffรffnung her eingeführt und mittels zweier an seinem oberen Rande befindlichen Glasnuten in dem Mantelrohr aufgehängt, das innen zwei Glaslager zum Einhängen des Einsatzes trägt. Den so montierten Apparat zeigt die Fig. 1. Die obere Öffnung des Mantelrohres wird durch eine Schlauchverbindung, „Glas an Glas", mit einem Kühler verbunden.

Durch die Einführung des Glaseinsatzes von unten kommt die sonst vorhandene obere Öffnung und damit entweder ein zweiter Schliff oder aber eine Quelle für ständiges Entweichen des Extraktionsmittels in Fortfall. Da der Glaseinsatz mit dem unteren Ende der Heberschleife in den oberen Teil des Extraktionskolbens hineinragt, haben die Dämpfe des Extraktionsmittels nur einen kurzen Weg und ganz freie Passage. Schließlich umspülen diese aufsteigenden Dämpfe den Glaseinsatz völlig, so daß das Extraktionsmittel in der Extraktionshülse ständig im Sieden erhalten wird. Besonders bei Extraktionen mit hochsiedenden Flüssigkeiten arbeitet der Apparat rascher als ältere Modelle; Verluste an Extraktionsflüssigkeit treten kaum ein, da die einzige vorhandene Öffnung aus einem breiten Schliff besteht.


Fig. 2.

Der gleiche Aufbau kann nun auch zur Extraktion von Flüssigkeiten mit Äther usw. verwandt werden, wenn man einen Glaseinsatz von entsprechender Form benützt, wie ihn z. B. Fig. 2 zeigt. Dieser Einsatz ist den bewährten Apparaten zur Extraktion von Flüssigkeiten nachgebildet, aber so eingerichtet, daß er ebenso wie der zuerst zur Extraktion fester Stoffe beschriebene Einsatz in das Mantelrohr von unten her eingeführt werden und darin mittels zweier Glasnuten aufgehängt werden kann.

Der Apparat ist in der vorstehend beschriebenen Ausführung nach meinen Angaben von den Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf in Berlin N. hergestellt worden und auch von dort zu beziehen. Vorläufig haben wir zwei Größen benutzt, eine kleinere, für die meist gebrauchte Form der Schleicher und Schüllschen Extraktionshülsen (30 × 80 mm) passend, und ein größeres Modell, das besonders für präparative Zwecke dient, dessen Einsatz 70 mm breit, 220 mm hoch, dessen Mantelrohr 80 mm breit und 300 mm hoch ist; der Extraktionskolben dazu hat ein Gesamtfassungsvermögen von $1^1/_2$ l und kann mit 800 bis 1000 ccm Flüssigkeit beschickt werden.

Über katalytische Lichtwirkung bei der Samenkeimung.

Von

Ernst Lehmann.

(Aus dem botanischen Institut der Universität Tübingen.)

(Eingegangen am 17. März 1913.)

In dieser Zeitschrift hat Neuberg[1]) zu verschiedenen Malen darauf hingewiesen, daß fast alle wichtigen Substanzen des pflanzlichen und tierischen Organismus in ausgesprochenem Maße lichtempfindlich werden, wenn sie bei Gegenwart von Mineralstoffen, insbesondere Eisen-, Mangan- oder Uransalzen, dem Sonnenlicht ausgesetzt werden. Das gilt für Kohlenhydrate, Proteine und viele aliphatische und zyklische Stoffe. Es handelt sich dabei im wesentlichen um Abbaureaktionen. Neuberg bezeichnet diese Reaktionen als lichtkatalytische und stellt sie den Wirkungen hydrolysierender und oxydierender Enzyme an die Seite. Da diese unter Temperaturzunahme zustande kommen, die für das Leben der Organismen als normale bezeichnet werden müssen, so schließt er mit Recht daraus, daß solche Lichtkatalysen zweifellos in biologischer Hinsicht von großer Bedeutung sein dürften.

Im folgenden möchte ich nun ein Beispiel aus dem Pflanzenreiche beibringen, wo echte enzymatische Prozesse völlig parallel gehen mit der Einwirkung des Lichtes und wo wir mit großer Sicherheit auf eine katalytische Wirkung des Lichtes schließen können, die ihre Erklärung höchstwahrscheinlich in einem Prozesse finden dürfte, der den Neubergschen lichtkatalytischen Reaktionen direkt an die Seite zu stellen ist.

Es ist besonders in neuerer Zeit bei immer zahlreicheren Pflanzen beobachtet worden, daß das Licht einen sehr großen

---

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **13**, 305, 1908; **27**, 271, 1910; **29**, 279, 1910; **39**, 158, 1912.

bestimmenden Einfluß auf das Eintreten der Keimung der der Samen hat. Wir kennen heute sehr viele Samen, die unter sonst gleichen äußeren Bedingungen nur im Lichte auszukeimen imstande sind. Andere Samen wieder werden durch das Licht an der Keimung gehindert. Es ist das allerdings nur unter ganz bestimmten Bedingungen der Fall. Viele Samen z. B., die bei 20° nur oder vorwiegend im Lichte keimen, keimen bei 30° auch im Dunkeln. Auch das Substrat hat sich in hohem Maße als ausschlaggebend erwiesen. Samen, die auf mit destilliertem Wasser getränktem Filtrierapparat nur im Lichte keimen, keimen auf Erde oder auf einem mit einer Nährlösung getränktem Filtrierpapier auch im Dunkeln.

Dieser keimungsfördernde Einfluß des Lichtes wurde nun schon seit längerer Zeit als katalytisch aufgefaßt, indem man annahm, das das Licht die Reservestoffe mobilisiere, d. h. also aus ihrer nicht diffusiblen Form, sei es nun als Kohlenhydrat, Fett oder Eiweißstoff, in die diffusible Form überführe. Es lag aber derzeit noch kein positiver Anhaltspunkt vor, der diese Hypothese stützte. Ich unternahm zur Klarlegung dieser Verhältnisse in Gemeinschaft mit A. Ottenwälder verschiedenerlei Versuche, über deren Einzelheiten an anderen Stellen eingehend berichtet wird[1]). Hier erscheint es mir aber wichtig, auf die Hauptresultate dieser Versuche hinzuweisen, da sie zweifellos zu weiteren biochemischen Untersuchungen anregen dürften und mit den eingangs erwähnten lichtkatalytischen Untersuchungen in engster Beziehung stehen.

Durch die Feststellung von so vielerlei Enzymen in keimenden Samen ist heute wohl kein Zweifel mehr, daß den Enzymen eine große Rolle bei der Keimung der verschiedensten Samen zukommt. Neben Diastasen, Invertasen usw. spielen bei der Samenkeimung, wie die Untersuchungen der letzten Jahre immer wieder von neuem zeigen, proteolytische Enzyme eine große Rolle. Es sind in erster Linie Trypsine, die als proteolytische Enzyme hier in Frage kommen. Solche Trypsine sind in den verschiedensten keimenden Samen aufgefunden worden, während sie in den ruhenden Samen nicht oder höchstens als Zymogene auftreten.

---

[1]) Zeitschr. f. Botanik 1913.

Die Bedeutung dieser Enzyme im keimenden Samen wurde dadurch noch offensichtlicher, daß nicht nur diese Enzyme, sondern auch die Eiweißspaltprodukte bei sehr vielen Samen aufgefunden wurden. Und zwar konnte festgestellt werden, daß mit abnehmendem Proteinhalt der Gehalt an Eiweißspaltprodukten stieg.

Es erhob sich nun die Frage, ob es wohl möglich sei, in solchen Fällen, wo eine Keimung im Dunkeln auf destilliertem Wasser bei einer gegebenen Temperatur nicht zustande kam, das Licht die Keimung aber hervorrief, das Licht durch einen anderen Katalysator zu ersetzen, sei es durch ein proteolytisches Enzym oder eine katalysierende Säure.

Zum Versuche kamen Samen von Epilobium hirsutum zur Verwendung, die es bei 20 bis 25° auf bestimmtem Nachreifestadium im Dunkeln nur sehr langsam zu einer wenig vollkommenen Keimung bringen, wenn man sie auf mit destilliertem Wasser getränktem Filtrierpapier zur Keimung auslegt. Im Lichte keimen sie unter sonst gleichen Verhältnissen zu 100%. Solche Samen wurden nun bei gleichmäßiger Temperatur (24°) auf das genannte Keimbett ausgelegt, während andere Samen in gleicher Anzahl auf Filtrierpapier gelegt wurden, das mit einer 0,1%igen neutralen Trypsinlösung oder Papayotinlösung getränkt war. Der folgende Versuch mag den Erfolg beispielsweise erläutern.

Epilobium hirsutum; Material gesammelt im November 1912.
Temperatur 24°.
Versuchsbeginn 21. Januar 1913.
Alles im Dunkeln. Dasselbe Samenmaterial ergab im Lichte bei derselben Temperatur 98 bis 100% Keimungen.

Datum	Dest. Wasser				Papayotin 0,1%				Trypsin 0,1%			
	a		b		a		b		a		b	
24.—31. I.	7	**7**	7	**7**	13	**13**	13	**13**	16	**16**	14	**14**
1.— 7. II.	0	**7**	3	**10**	18	**31**	10	**28**	28	**44**	52	**66**
8.—12.	4	**11**	3	**13**	32	**63**	34	**57**	20	**64**	15	**81**
13.—18.	23	**35**	6	**19**	4	**67**	3	**60**	6	**64**	1	**82**

Aus diesem Versuch erhellt klar die stark keimfördernde Wirkung der beiden zur Anwendung gekommenen proteolytischen Enzyme. Diese Enzyme wirken ganz und gar in derselben Richtung wie das Licht, wenngleich sie nicht einen so

starken Einfluß ausüben wie dieses. Solche und ähnliche Versuche haben immer entsprechende Resultate geliefert.

In gleicher Weise wie die angewandten proteolytischen Enzyme wirken nun auch verschiedene zur Anwendung gekommene Säuren. Besonders wirksam hat sich, wie zu erwarten war, Salzsäure gezeigt. Diese ergab, je nach den verschiedenen Temperaturen, bei denen die Samen ausgelegt wurden, bei verschiedener Konzentration ein Optimum der Keimung. Es sei wieder ein Versuch als Beispiel angeführt.

Material: Epilobium hirsutum; gesammelt im November 1912.
Temperatur 22°.
Substrat: Salzsäure verschiedener molekularer Konzentration.
Versuchsbeginn 26. XI. 1912.
Alles im Dunkeln. Auf destilliertem Wasser kommt es in derselben Versuchszeit zu ca. 10 bis 20 Keimungen.

Datum	0,025 mol.				0,05 mol.				0,1 mol.				0,2 mol.			
	a		b		a		b		a		b		a		b	
28. XI.	2	2	6	6	0	0	4	4	4	4	3	3	5	5	6	6
29.	2	4	3	9	5	5	0	4	12	16	17	21	12	17	11	17
30.	1	5	1	10	6	11	2	6	14	30	10	30	8	25	5	22
2. XII.	4	9	0	10	6	17	5	11	15	45	14	44	10	35	12	34
3.	2	11	0	10	7	24	5	16	10	55	6	50	3	38	7	41
4.	7	18	9	19	13	37	7	23	7	62	8	58	8	46	4	45
5.	7	25	5	24	12	49	14	37	4	66	2	60	3	49	1	46
6.	11	36	6	30	6	55	9	46	2	68	4	64	0	49	1	47
7.	2	39	2	32	9	64	9	55	0	68	0	64	0	49	2	49
9.	6	44	9	41	14	78	17	72	0	68	0	64	0	49	0	49
10.	0	45	2	43	4	82	5	77	0	68	3	67	0	49	0	49
Summa		45		43		82		77		68		67		49		49

Enzyme, Salzsäure und Licht, zu der sich dann noch erhöhte Temperatur und in vielen Fällen der Sauerstoff gesellen, haben alle dieselbe Wirkung, sie beschleunigen oder ermöglichen die Keimung. Das kann aber nach unseren heutigen Erfahrungen auf keinem anderen Wege geschehen, als durch Beschleunigung der Abbauvorgänge im Samen. Eine solche Beschleunigung wird aber sicher katalytischer Natur sein, und so kommen wir zu dem Ergebnis, daß wir dem Lichte hier katalytische Funktionen beim Eiweißabbau zuzusprechen haben.

Da die Förderung der Enzymbildung oder aber Förderung der Enzymwirkung durch das Licht derzeit kaum ernstlich in

Frage kommt, so liegt die Annahme im höchsten Maße nahe, die eben besprochenen reaktionsbeschleunigenden Prozesse in der Weise der Neubergschen Lichtkatalyse zu erklären. Mineralstoffe, wie Eisensalze, werden keimenden Samen wohl immer zu Gebote stehen, so daß auch von dieser Seite der Erklärung keine Schwierigkeiten im Wege stehen.

Natürlich sind die Verhältnisse hiermit noch nicht endgültig aufgeklärt. Es wird eine Aufgabe der physiologischen Chemie sein, nunmehr ihrerseits solche lichtempfindlichen Samen im Lichte und im Dunkeln auf ihren Gehalt an eventuell vorhandenen proteolytischen Enzymen und an Eiweißspaltprodukten eingehend zu prüfen. Die Untersuchungen, die bis heute auf diesem Gebiete vorliegen, beschränken sich fast ausschließlich auf Kultursämereien, die aber in ihrer Keimung kaum vom Lichte beeinflußt werden, sondern sowohl im Lichte als im Dunkeln gleicherweise auskeimen. Sie bilden also wohl unter beiderlei Bedingungen genügende proteolytische Enzyme sowohl zur Eiweißspaltung als auch um auskeimen zu können. Wie das aber bei den lichtempfindlichen Samen liegt, wissen wir heute noch gar nicht, wäre aber gerade im Hinblick auf die hier erörterten Versuchsergebnisse und Beziehungen im höchsten Maße interessant zu erfahren.

Zur elektrochemischen Grundlage der bioelektrischen Potentiale.

Von

J. Bernstein (Halle).

(Eingegangen am 28. März 1913.)

Mit 2 Figuren im Text.

Seitdem von mir im Jahre 1902 auf Grund der Ostwaldschen[1]) Anschauung über die elektrischen Eigenschaften semipermeabler Membranen eine kurz als „Membrantheorie"[2]) bezeichnete Ableitung der bioelektrischen Erscheinungen gegeben worden ist, sind verschiedenartige Modifikationen derselben hervorgetreten, die mir Veranlassung geben, zu dieser Frage auch im Kreise der physikalischen Chemiker und der Biochemiker Stellung zu nehmen. In dem jüngst erschienenen Buche „Elektrobiologie"[3]) habe ich dies schon im allgemeinen getan, möchte dies aber hier etwas eingehender begründen.

Nach der Membrantheorie, die durch Fig. 1 dargestellt sein mag, befindet sich innerhalb der Plasmamembran einer Faser oder Zelle ein Elektrolyt von der Konzentration c_1 und außerhalb derselben von der Konzentration c_2. Hat man die Faser an einem Ende verletzt oder die dort befindliche Plasmamembran zerstört, so erhält man von Längs- und Querschnitt einen Strom, und wenn man annimmt, daß das Anion des Elektrolyten durch die semipermeable Plasma-

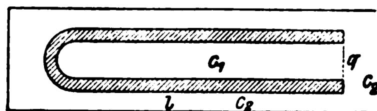


Fig. 1.

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 6, 71, 1890.
[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. 92, 521, 1902.
[3]) Braunschweig, Vieweg & Sohn. 1912.

membran nicht durchgelassen wird, so ist die Kraft dieses Stromes:

$$E = K \cdot T \cdot \frac{2v}{u+v} \ln \frac{c_1}{c_2},$$

wobei u und v die Beweglichkeiten in den beiden Lösungen bedeuten.

Es ist nun gegen die Ostwaldsche Ansicht, daß die semipermeablen Membranen auch Ionenfilter seien, der Einwand erhoben worden, daß diese Annahme physikalisch nicht hinreichend begründet sei, und dieser Einwand würde dann auch meine ursprüngliche Membrantheorie treffen. Insbesondere haben Haber und Klemenziewicz[1]) darauf hingewiesen, daß der Begriff einer selektiven Ionenpermeabilität der Membran nicht klar genug sei und daß man an seiner Stelle die von Nernst begründeten Tatsachen und Theorien der Verteilung von Stoffen auf zwei nicht mischbare Lösungsmittel, die man als zwei Phasen betrachtet, anzuwenden habe. An der Trennungsfläche der beiden Phasen ist von Nernst und Riesenfeld bei der Verteilung eines Elektrolyten zwischen ihnen eine Phasengrenzkraft nachgewiesen worden, die man aus einem verschiedenen Teilungskoeffizienten für beide Ionen in jeder Phase erklärt hat. Haber und andere sind nun geneigt, die bioelektrischen Potentiale auf solche Phasengrenzkräfte zurückzuführen.

Nach der Ostwaldschen Anschauung sind also die halbdurchlässigen Membranen im wesentlichen als Diaphragmen anzusehen, in deren Poren Moleküle und Ionen bei ihrem Eintritt gehemmt werden. Nach der Nernstschen Anschauung sind sie dagegen im wesentlichen Lösungsmittel. Es kann hier nicht meine Absicht sein, zwischen diesen beiden Anschauungen entscheiden zu wollen, und ich gebe zu, daß der Begriff der Löslichkeit von Molekülen und Ionen ein präziserer ist als der der Permeabilität. Indessen möchte ich zu bedenken geben, daß es hiernach schwer sein würde, sich z. B. vorzustellen, weshalb Zuckermoleküle durch eine Membran von Ferrocyankupfer nicht hindurchgelassen werden, während Wassermoleküle und andere durchtreten. Eine solche Membran ist doch nicht als ganz homogene Phase anzusehen, sondern besteht wohl aus

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 67, Heft 4, S. 387, 1909.

Partikelchen, zwischen denen sich Capillarinterstitien befinden. Wenn durch letztere Wasser- und andere Moleküle, aber nicht Zuckermoleküle hindurchgehen, so könnte das wohl auf der Wirkung von Molekularkräften der Capillarwandungen beruhen.

Aber abgesehen von allen solchen Überlegungen soll hier nur erwogen werden, wie sich die Erfahrungen der Elektrobiologie zu der Theorie der Phasengrenzkräfte als Ursache der bioelektrischen Ströme verhalten.

Ich muß hier als grundlegende Tatsache vorausschicken, daß nach meinen Untersuchungen der Potentialsprung des Muskelstromes sich am Längsschnitt (unverletzte Stelle) und nicht am Querschnitt (verletzte Stelle) befindet.

Die letztere Annahme machte die Hermannsche Alterationstheorie. Die von mir aufgestellte Membrantheorie dagegen geht von der ersteren Annahme aus und ist eine Präexistenztheorie, d. h. sie nimmt an, daß an der Oberfläche der lebenden Fasern (Zellen) ein Potential (elektrische Doppelschicht) existiert. Der Beweis hierfür ist von mir[1]) durch Thermoversuche erbracht worden, die zuerst von L. Hermann selbst angestellt waren. Der entscheidende Versuch besteht darin, daß Erwärmung oder Abkühlung der Querschnittspartie eines Muskels die Kraft des abgeleiteten Stromes gar nicht ändert, wohl aber die Temperaturänderung der Längsschnittspartie. Diese Kräfte sind in letzterem Falle ebenso wie bei Temperaturänderungen des ganzen Muskels nach meinen Messungen annähernd proportional den absoluten Temperaturen.

Nun kann man bei Anwendung der Phasentheorie (wie ich sie kurz nennen will) von zwei Möglichkeiten ausgehen. Die erste besteht darin, daß man eine Membram annimmt, wie Fig. 1 darstellt, und diese als zweite Phase betrachtet. In diesem Falle würde sich, wie sich gleich ergibt, an meiner Membrantheorie nichts wesentliches ändern. Es entstehen dann zwei Phasengrenzpotentiale, eins an der äußeren und eins an der inneren Oberfläche der Membran, die einander gleich und entgegengesetzt sind, da der Teilungskoeffizient von der Kon-

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 131, 589, 1910; s. Elektrobiologie S. 96.

zentration unabhängig ist. Dies gilt auch für die Ionen der dissoziierten Moleküle, und man kann annehmen, daß in den Organen die Dissoziation eine vollständige ist. Die Phasengrenzpotentiale kommen also in diesem Falle gar nicht in Betracht, und es bleibt nur das Diffusionspotential der durch die Plasmamembran getrennten Lösungen von der Konzentration c_1 und c_2 übrig.[1]) Die Kraft des Muskelstromes von Längsschnitt und Querschnitt wird dann unter der von mir gemachten vereinfachenden Annahme, daß das Anion des Elektrolyten von der Plasmamembran nicht durchgelassen wird, d. h. daß seine Beweglichkeit in diesem Lösungsmittel gleich Null ist, ausgedrückt durch die Formel:

$$E = \frac{2v}{u+v} \frac{RT}{m} \ln \frac{c_1}{c_2},$$

wenn u und v die Beweglichkeiten der Ionen in den Lösungen c_1 und c_2 sind (m die Wertigkeiten derselben). Diese Formel stimmt mit der von mir schon (Arch. f. d. ges. Physiol. **92**, 541, 1902; s. Elektrobiologie S. 95) gegebenen vollständig überein.[2])

Die zweite Möglichkeit für die Anwendung der Phasentheorie besteht in der Annahme, daß der gesamte Inhalt der Faser die zweite Phase gegen die umgebende Flüssigkeit als erste Phase bildet, oder auch daß die Fibrille der Muskelfaser die eine und das Sarkoplasma die andere Phase darstelle. Diese letztere Vorstellung, die ich kurz „Phasengrenztheorie“ nennen will, ist es, von der Haber (l. c. S. 389) ausgeht und daraus den Aktionsstrom bei der Reizung zu erklären sucht, worauf wir noch zurückkommen. Zunächst aber ist es erforderlich, nach dieser Annahme den Ruhestrom von Längs- und Querschnitt zu deuten, was von Haber nicht geschehen ist.

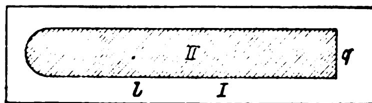


Fig. 2.

Es sei nun in Fig. 2 entweder der ganze Faserinhalt gegen die Zwischenflüssigkeit I oder eine Fibrille gegen das Sarkoplasma als besondere

[1]) Darauf hat schon Cremer hingewiesen; s. Nagels Handb. d. Physiol. **4**, 875.

[2]) S. auch Riesenfeld, Inaug.-Diss., S. 25. Göttingen 1901. — Die Elektrodenpotentiale der hier betrachteten Kette fallen für den Muskelstrom fort, da der Kreis im Muskel selbst geschlossen ist.

Phase II gestrichelt dargestellt und an einer Seite ein Querschnitt angelegt. Wenn nun am Querschnitt keine Änderung der Phasen erfolgt, so würden die Phasengrenzkräfte in *l* und *q* einander gleich und entgegengesetzt sein, und es könnte ein Längsquerschnittstrom nicht entstehen. Man ist also genötigt, auf den Standpunkt der Alterationstheorie zurückzugehen und anzunehmen, daß am Querschnitt ein Potentialsprung durch chemische Veränderung entsteht. Der oben angegebene Thermoversuch beweist aber, daß am Querschnitt ein solcher Potentialsprung nicht existiert; denn wenn das der Fall wäre, so müßte sich der Ruhestrom durch Erwärmen des Querschnittendes in *q* verstärken, durch Abkühlen schwächen. Das ist aber nicht der Fall. Vielmehr verändert nur die Temperaturänderung des Längsschnittendes in *l* die Kraft des Stromes. Hiermit scheint mir die Voraussetzung, von der Haber, Pauli[1]) und manche andere ausgehen, direkt widerlegt zu sein.

Daß am Querschnittsende chemische Veränderungen eintreten, unterliegt keinem Zweifel, aber sie sind nicht die Ursache der vorhandenen Potentialdifferenzen. Man hat namentlich daselbst entstehende Milchsäure und Kohlensäure als solche Produkte angesehen, die den Strom liefern sollen. Nach der Membrantheorie können sie das nicht tun, denn ihre Ionen diffundieren in *q* (Fig. 1) nach beiden Seiten hin in die Lösungen c_1 und c_2 mit nahezu gleicher Geschwindigkeit. Nach der anderen Theorie dagegen könnten die Beweglichkeiten der Ionen in *q* (Fig. 2) nach beiden Richtungen hin verschiedene sein, wie dies Oker-Blom annahm, und so in *q* eine Potentialdifferenz erzeugen. Aber diese ist eben nicht vorhanden.

Die Aktionsströme des unverletzten Muskels, sowie die negative Schwankung des Längsquerschnittstromes erklärt die Membrantheorie aus der Veränderung der Membran bei der Reizung, indem diese hierbei auch für das Anion des Elektrolyten mehr oder weniger permeabel wird. Das Membranpotential

[1]) Pauli, Kolloidchemie der Muskelcontraction, über den Zusammenhang von elektrischen, mechanischen und chemischen Vorgängen im Muskel, S. 9. 1912. Pauli hat offenbar von meinen oben zitierten Untersuchungen über die Thermoströme des Muskels keine Kenntnis genommen.

nimmt an der gereizten Stelle ab, und diese verhält sich daher negativ gegen jede ruhende Stelle des Muskels.

Nach der Phasengrenztheorie (Fig. 2) muß man annehmen, daß an der gereizten Stelle ein Elektrolyt entsteht, das die umgebende Flüssigkeit gegen die Faser oder Fibrille negativ ladet. Dies könnte nach Haber (l. c.) schon durch geringe Mengen Säure geschehen, die sich durch den chemischen Prozeß bei der Contraction bildet.

So verlockend diese Ansicht auch erscheint, so läßt sich dagegen doch folgendes einwenden.

Der elektrische Prozeß geht an einer jeden erregten Muskelstelle dem Contractionsprozeß voraus und hat seinen Höhepunkt bereits überschritten, bevor die Contraction erheblich zu wachsen beginnt (s. Elektrobiologie S. 52, Fig. 15). Man muß daher die chemischen Prozesse, die dem Aktionsstrom und der Contraction zugrunde liegen, zeitlich und stofflich voneinander trennen, obgleich der erstere sicherlich die Vorbedingung des letzteren ist. Diese wichtige Tatsache wird von denen, die nach rein chemischen Gesichtspunkten Theorien machen (Pauli), gänzlich ignoriert.

Die chemischen Prozesse bei einer Muskelzuckung, die namentlich in Bildung von Milchsäure und Kohlensäure bestehen, werden daher erst im Maximum der Contraction ihren Höhepunkt erreicht haben, und wenn sie die Ursache des Aktionsstromes wären, so müßte auch das Maximum desselben mit diesem Punkte zusammenfallen, oder mindestens so lange maximal andauern, als die Zuckung anwächst. Das ist aber keineswegs der Fall. Die Maxima des Aktionsstromes und der Contractionswelle einer bestimmten Stelle des Skelettmuskels des Frosches liegen um 0,06 Sek. auseinander. Man kann nicht mechanische Trägheit oder Reibung als Ursache dieser Zeitdifferenz ansehen, denn beim Herzmuskel des Frosches beträgt die Differenz der beiden Maxima etwa 1 Sek., und beim glatten Muskel eine größere Anzahl von Sekunden.

Es ist von vornherein einleuchtend, daß diejenigen chemischen Prozesse, die die Muskelarbeit liefern, erst bei der Verkürzung des Muskels erfolgen, nicht vorher im Stadium der latenten Reizung; denn sonst müßte die chemische Energie erst in Wärme und diese in Arbeit umgesetzt werden. Der Muskel

ist aber, wie A. Fick schon überzeugend nachgewiesen hat, keine thermische, sondern eine chemodynamische Maschine. Ich werde in einer anderen Arbeit den experimentellen Beweis dafür erbringen, daß die chemische Energie im Muskel während der Verkürzung in Arbeit umgesetzt wird. Hier will ich daher diese Frage nicht weiter verfolgen[1]).

Man könnte nun daran denken, und dies ist auch von einigen angenommen worden, daß in der Latenz schon die Spaltung in Milchsäure vor sich ginge und den Aktionsstrom bewirke, und daß diese erst bei der Contraction verbrenne[2]).

Wenn nun aber die Phasengrenztheorie nach Schema Fig. 2 durch die Unmöglichkeit, den Längsquerschnittstrom zu erklären, widerlegt ist, so kann man nach dieser auch nicht den Aktionsstrom deuten. Es bleibt also zunächst nur die Deutung desselben nach der Membrantheorie des Schema von Fig. 1 übrig, gleichgültig ob man die Membran als Diaphragma nach Ostwald oder als Lösungsmittel nach Nernst-Riesenfeld betrachtet. Die physikalisch-chemische Zustandsänderung dieser Membran, die bei der Reizung eintritt, ist in diesem Sinne identisch mit dem Prozeß der Erregung. Dieselbe könnte zwar auch in einer Säurebildung bestehen, doch möchte ich eher annehmen, daß dabei erst die Bildung eines Spaltungs- und Oxydationsfermentes in der Latenz stattfindet, wobei der Sauerstoff aktiviert wird, und daß die Spaltung und Oxydation erst bei der Contraction erfolgen.

Die Membrantheorie in der einen oder anderen Form setzt die Gegenwart eines oder mehrerer Elektrolyten in den Lösungen voraus. Daß solche vorhanden sind, beweist die Gegenwart der verschiedenen Salze in ihnen, besonders der Kaliumsalze in der Ionen- und der Natriumsalze in der Außenflüssigkeit. Die Phasengrenztheorie nach Schema Fig. 2 dagegen braucht die Gegenwart solcher Elektrolyte in der Ruhe des Muskels nicht, sondern läßt dieselben erst bei der Verletzung am Querschnitt und bei der Reizung am Längsschnitt entstehen. Da aber das Vor-

---

[1]) Noch weniger ist es glaublich, daß, wie Pauli annimmt, bei der Verkürzung nur Spaltung in Säuren (Milchsäure) stattfinde, und erst bei der Erschlaffung die Hauptmenge der Energie durch Oxydation derselben geliefert werde.

[2]) S. darüber Elektrobiologie S. 65 ff.

handensein eines Potentialsprunges am Querschnitt widerlegt ist, läßt sich auf diese Weise eine einheitliche Deutung der Erscheinungen nicht geben. Diese Theorie braucht auch einen Potentialsprung am Längsschnitt des unverletzten Muskels nicht vorauszusetzen. Derselbe ist aber vorhanden und kommt im Thermostrom[1]) zum Vorschein, wenn die beiden Hälften eines unverletzten Muskels verschiedene Temperaturen annehmen. Die wärmere Stelle desselben ist positiv gegen die kältere. Der entstehende Thermostrom ist die Differenz der beiden Längsquerschnittströme von der wärmeren und kälteren Muskelhälfte; denn wenn man an der Grenze zwischen beiden Hälften den Muskel zerquetscht, so ändert sich die Kraft des von beiden Hälften abgeleiteten Stromes dadurch nicht im geringsten. Dadurch bestätigt es sich, daß Lage und Kraft des Potentialsprunges des Thermostromes dieselben sind wie die des Längsquerschnittstromes.

Ferner möchte ich noch eine Bemerkung über die Oberflächenspannungstheorie der Contraction anfügen. Haber ist geneigt, die von mir gegebene Theorie mit den elektrischen Erscheinungen in Zusammenhang zu bringen[2]). In der Tat müßte ja eine Verminderung des Potentials an einer Phasengrenze eine Erhöhung der Oberflächenspannung daselbst bewirken. Indessen habe ich Bedenken getragen, diese als Ursache für die Contraction zu verwerten; denn abgesehen davon, ob sie hierzu groß genug sein mag, fällt sie der Zeit nach eben nicht mit der Contraction zusammen und, was der Hauptgrund ist, der elektrische Prozeß ist am Nerven im wesentlichen ganz derselbe wie am Muskel, ohne daß damit eine Contraction verbunden ist. Ich nehme daher an, daß die wirksame Oberflächenenergie im Muskel erst aus den chemischen Prozessen während der Contraction hervorgeht.

Schließlich noch einige Worte über die vermutlichen Elektrolyte, die die Membrantheorie im Muskel voraussetzt. Die von mir ausgesprochene Vermutung, daß das K_2HPO_4 der Muskelfaser ein solches Elektrolyt sei, wird von den Gegnern[3]) der Theorie deshalb angegriffen, weil Höber nachgewiesen

---

[1]) l. c. Elektrobiologie S. 97.
[2]) l. c. S. 390.
[3]) Pauli, l. c. S. 9.

habe, daß die Kaliumionen nicht durch die Plasmahaut hindurchgingen. Indessen war dieser Nachweis kein experimenteller, sondern wurde nur daraus geschlossen, daß bei Behandlung des Muskels mit isotonischer ClK-Lösung der Muskelstrom sich nicht umkehrt, sondern nur bis auf 0,001 bis 0,007 Volt sinkt[1]). Später hat Höber aber zugunsten meiner Vermutung die Tatsache angeführt[2]), daß nach den Versuchen von Overton 1,35 %ige K_2HPO_4-Lösung einen inversen Muskelstrom von 1 bis 2 Millivolt hervorruft. Daß der umgekehrte Strom nicht stärker wird, erklärt sich m. E. zur Genüge daraus, daß ein Übermaß der Kaliumsalze den Muskel und seine Plasmahäute schnell abtötet.

Ich möchte hierbei noch ganz besonders hervorheben, daß es viel weniger auf die Größe der Beweglichkeit des K-Ion in der Membran ankommt, als vielmehr auf die Annahme, daß die Beweglichkeit des PO_4-Ion in derselben fast Null ist. Nach dieser sehr wahrscheinlichen Annahme wird das Membranpotential $\pi = K \cdot T \cdot \frac{u - v}{u + v} \ln \frac{c_1}{c_2}$ nahezu gleich $K \cdot T \ln \frac{c_1}{c_2}$. Daß bei Behandlung mit ClK-Lösungen der Muskel schon früher abstirbt als bei der mit K_2HPO_4, erklärt sich vielleicht daraus, daß die ClK-Moleküle gleich als solche in die Faser eindringen, die K_2HPO_4-Moleküle dagegen anfangs nicht. Wenn die K-Ionen überhaupt nicht eindringen würden, wäre es ja gar nicht zu verstehen, weshalb die Kaliumsalze so verderblich auf den Muskel wirken.

---

[1]) Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. **106**, 608, 1905.

[2]) Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 3. Aufl. S. 486.

Über das Verhalten des Muskelkreatins bei der Ermüdung.

Von

Vittorio Scaffidi.

(Aus dem Laboratorium des italienischen Hospitals zu Buenos Aires.)

(Eingegangen am 4. März 1913.)

Aus den Versuchen über den Kreatin- und Kreatininstoffwechsel bei der Muskeltätigkeit, deren Ergebnisse ich in einer anderen Mitteilung[1]) ausführlicher wiedergegeben habe, geht hervor, daß die Ausscheidung dieser beiden Stoffe merkliche Veränderungen erfährt, sobald die Muskeltätigkeit eine gewisse Grenze überschreitet. Bleibt sie aber unterhalb dieser, so gehen die Schwankungen nicht über die Differenzen hinaus, die auch unter normalen Verhältnissen zu verzeichnen sind.

Diese Versuche können aber in bezug auf die Frage des Einflusses der Muskeltätigkeit auf den Umsatz der beiden Stoffe nicht als erschöpfend angesehen werden, denn wenn auch einerseits die Annahme berechtigt ist, daß während der Arbeitsleistung die Produkte des Muskelstoffwechsels als wichtige Faktoren mitspielen, so ist es andrerseits nicht möglich, genauer zu bestimmen, inwieweit gewisse Verschiedenheiten im Stoffwechsel dem Einflusse der Muskeltätigkeit oder aber dem anderer Organe zuzuschreiben sind.

Es ist deshalb notwendig, den Abbau des Kreatins und des Kreatinins während der Muskelarbeit am Muskel selbst zu beobachten. Die bisher zu diesem Zweck ausgeführten Versuche haben keine eindeutigen Resultate ergeben. Der Grund dieser Unstimmigkeit liegt höchstwahrscheinlich in den verschiedenen Untersuchungsbedingungen der einzelnen Forscher und in der Anwendung von Methoden, die nicht immer als

---

[1]) Scaffidi, Lo Sperimentale. 1910.

einwandfrei angesehen werden können. Es kommt dabei stark zum Vorschein, daß kleinere Abweichungen in der Technik recht bedeutende Unterschiede in den Ergebnissen hervorrufen.

Die ersten Versuche über die beiden genannten Stoffe im ruhenden und im ermüdeten Muskel verdanken wir Liebig, der eine Methode zur Bestimmung des Kreatins mitgeteilt und eine neue Base im Muskelgewebe dargestellt hat: das Kreatinin. Dieser Stoff ist nach seinen Ergebnissen im Muskel in geringeren Mengen vorhanden als das Kreatin. Liebig[1]) hat in den Muskeln von nach mehrstündiger Jagd erlegten Füchsen eine bedeutend größere Menge von Kreatinin aufgefunden als in den Muskeln ruhender Füchse.

Einige Jahre darauf hat Borszezow[2]), im Anschluß an Versuche über die Milchsäure im ermüdeten Muskel, sein Augenmerk auch auf das Verhalten des Kreatins und Kreatinins gerichtet. Er ist dabei zu dem Schlusse gekommen, daß nur das Kreatin als ein normaler chemischer Bestandteil des Muskelgewebes betrachtet werden könne, während dem Kreatinin eine ganz nebensächliche Bedeutung zukomme. Weiter glaubte er folgern zu müssen, daß entgegen den damals herrschenden Anschauungen das Kreatin vom Kreatinin abstamme, ein Standpunkt, der auch heute noch vertreten wird.

Sarokow[3]) hat seine Versuche an Froschmuskeln, die nicht vom Körper getrennt waren, durchgeführt. Er hat gefunden, daß sich unter normalen Verhältnissen die Mengen des Kreatins und Kreatinins nahezu konstant verhalten. Nach Reizung der Muskeln durch Einwirkung des elektrischen Stromes waren die Mengen des Kreatinins beinahe verdoppelt, und es bestand eine gewisse Zunahme in der Gesamtmenge des Kreatins und Kreatinins.

Nawroki[4]) und Sczelkow[5]) haben bei ähnlichen Versuchen in bezug auf die Veränderungen des Kreatingehaltes ganz entgegengesetzte Resultate erhalten. Ersterer hat nach Reizung der Muskeln keinerlei Zunahme des Stoffes konstatiert, letzterer fand ihn hingegen in vermehrter Menge. Beide Forscher stimmen jedoch darin überein, daß in den Muskeln der von ihnen benutzten Versuchstiere (Vögel und Amphybien) kein Kreatinin aufzufinden war.

Im schroffen Gegensatz zu allen eben erwähnten Arbeiten stehen die Ergebnisse von Voit[6]), der im ermüdeten Muskel eine Abnahme des Kreatins und des Kreatinins beobachtete und den Schluß zieht, daß das Kreatin sich in einen Stoff umwandelt, der nicht mit Kreatinin identisch ist.

---

[1]) Liebig, Annal. d. Chem. 1848.

[2]) Borszezow, Würzb. naturwissenschaftl. Zeitschr. 11, 1861.

[3]) Sarokow, Virchows Archiv 28, 1863.

[4]) Nawroki, Centralbl. f. med. Wiss. 3 und 4.

[5]) Sczelkow, ebenda 4, 1866.

[6]) Voit, Zeitschr. f. Biol. 4.

Monari[1]) hat Hunde mit Mossos Apparat ermüdet und auch an Muskelgruppen toter Tiere, die er mit dem elektrischen Strome reizte, gearbeitet. Bei Prüfung fand er Zunahme des Kreatinins und bei Tieren, nach sehr großer Arbeitsleistung, auch eine Vermehrung des Gesamtgehaltes an Kreatin und Kreatinin.

Graham-Browm und P. Cathcart[2]) haben in isolierten, gereizten Froschmuskeln wahrgenommen, daß der Gesamtgehalt an Kreatin und Kreatinin um 6 bis 13 % ansteigt. Wurde aber die Reizung am lebenden Tiere vollzogen, so trat eine quantitative Verminderung dieser Stoffe ein.

Mellanby[3]) hat nach Tetanisierung durch direkte Reizung der Muskeln eine so geringe Zunahme des Kreatins gefunden, daß er einen Einfluß der Muskelarbeit auf die Bildung dieses Stoffes für ausgeschlossen hält.

Pekelharing und van Hoogenhuyze[4]) haben in den Froschmuskeln nach Tetanisierung oder rhythmischer Reizung mittels Öffnungs- und Schließungsströmen des Induktoriums nur ganz geringe Schwankungen des Kreatin- und Kreatiningehaltes nachweisen können.

v. Fürth und Schwarz[5]) haben in ihrem Versuch am Hunde die Muskeln eines Gliedes gereizt und die Ergebnisse mit denen an den Muskeln des entsprechenden in Ruhe gelassenen Gliedes verglichen. Die Gesamtmengen des Kreatins und Kreatinins waren die gleichen, wenn sie auf die jeweils benutzte Muskelmasse bezogen wurden. Ein kleiner Unterschied ergab sich bei der Berechnung der prozentigen Werte des Entractiv-N. Doch ist er so gering, daß er nicht auf die verschiedenen funktionellen Bedingungen der beiden Glieder bezogen werden darf.

Es ist klar, daß aus diesen hier in Kürze wiedergegebenen, so verschieden lautenden Versuchsergebnissen ein Schluß auf die Veränderungen der in Frage stehenden beiden Stoffe nicht gezogen werden kann. Gehen doch die Resultate so weit auseinander, daß die einen Forscher eine große Zunahme des Kreatinins bei Muskelarbeit (Liebig), andere eine mäßige Vermehrung dieses Stoffes und manchmal auch des Kreatins (Sarokow, Sczelkow, Monari, Graham-Brown und Cathcart), noch andere eine minimale Vermehrung (Fürth und Schwarz) berichten. Dieser Partei gegenüber stehen diejenigen, die keine Spur einer Veränderung in den Mengen der Stoffe (Nawroki, Mellanby, Pekelharing und van Hoogenhuyze) finden, und

[1]) Monari, Annali di chimica e di farmacologia 10, 4.

[2]) Graham-Brown and P. Cathcart, Journ. of Physiol. 37.

[3]) Mellanby, Journ. of Physiol. 35.

[4]) Pekelharing und van Hoogenhuyze, Zeitschr. f. physiol. Chem. 64.

[5]) v. Fürth und Schwarz, diese Zeitschr. 30.

endlich diejenigen, die sogar eine Verminderung des Kreatingehaltes (Voit; Graham-Brown und Cathcart, bei Bestehenbleiben der Blutzirkulation während der Reizung) konstatieren.

So große Verschiedenheiten können unmöglich den wirklichen Schwankungen im Kreatin- und Kreatininstoffwechsel entsprechen. Sie müssen zweifellos in den von den einzelnen Autoren angewandten Untersuchungsmethoden ihre Ursache haben. Es liegen sicherlich hierbei Bedingungen vor, die die Ergebnisse auf irgendeine noch aufzuklärende Weise beeinflussen.

Ist präformiertes Kreatinin im Muskelgewebe vorhanden?

Die erste Frage, deren Lösung sich uns aufdrängt, ist die nach der Gegenwart von Kreatinin im Muskelgewebe. Als eine normale Komponente des Muskelgewebes betrachten es Liebig, Sarokow, Voit, Monari, v. Fürth und Schwarz; dagegen sehen es Sczelkow, Nawroki und Mellanby nicht als präformierten Bestandteil des Gewebes an.

Ich habe also vor allem festzustellen versucht, ob Kreatinin als solches präformiert im Muskel besteht, und ob es sich nicht etwa während der Darstellung des Muskelextraktes aus Kreatin bildet.

Ich habe zu diesem Zwecke Muskeln des Hundes und des Frosches mit der Buchnerschen Presse ausgepreßt. Die Versuche sind folgendermaßen verlaufen:

1. Muskeln des Hundes.

100 g Muskelgewebe der hinteren Gliedmaßen werden mit Quarzpulver zerrieben und unter Druck von 300 Atmosphären ausgepreßt. Die erhaltene Flüssigkeit wird mit ca. 400 ccm Alkohol von 90° 5 Stunden im Schüttelapparat und dann eine Nacht im Eisschranke belassen. Dann wird abfiltriert, der Rückstand mit Alkohol ausgewaschen und so das Filtrat auf 600 ccm aufgefüllt.

a) An 100 ccm von diesem Auszuge (gleich ca. 17 g der ausgepreßten Muskeln) ergibt die Reaktion nach Jaffé ein negatives Resultat. Der Auszug bleibt, nach Zusatz von Pikrinsäure und Soda, gelb. Erst nach Verlauf von mehr als einer halben Stunde beginnt seine Farbe allmählich ins Chromgelb überzugehen, und diese Färbung wird in den folgenden Tagen immer deutlicher und stärker.

Diese allmähliche chromgelbe Verfärbung muß von einer langsamen Umgestaltung des Kreatins in Kreatinin herrühren. Daß im Extrakte Kreatin vorhanden ist, obwohl sich dieser Stoff bekanntlich weniger als Kreatinin löst, ergibt sich aus folgenden Analysen.

b) 50 ccm des alkoholischen Muskelauszuges werden auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand mit warmem Wasser wieder aufgelöst. Nach Erkalten fällt die Jafféche Reaktion schwach positiv aus. Dieser Ausschlag rührt wohl von der Umwandlung einer kleinen Menge Kreatin in Kreatinin her, die unter Einwirkung der Wärme in der Flüssigkeit, obwohl diese neutral reagierte, stattgefunden hat.

c) 50 ccm des gleichen Auszuges wurden auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand wird mit warmem Wasser aufgelöst, 4 ccm HCl beigemengt und das ganze $^1/_2$ Stunde bei 115° im Autoklaven erhitzt. Die hierauf vorgenommene Jafféche Probe erweist sich als stark positiv.

Im Auszuge war also Kreatin und kein Kreatinin vorhanden.

2. Muskeln des Frosches.

Von 20 Fröschen werden 90 g Schenkelmuskeln zerrieben und unter 300 Atmosphären ausgepreßt. Dem Safte werden 50 ccm Wasser und 150 ccm Alkohol von 90° zugegeben; diese Flüssigkeit bleibt 3 Stunden im Schüttelapparat und eine Nacht im Eisschranke. Dann wird abfiltriert, der Rückstand mit Alkohol nachgewaschen und so das Filtrat auf 300 ccm gebracht.

a) Die an 50 ccm des Auszuges (gleich 15 g des verarbeiteten Muskelgewebes) vorgenommene Jafféche Reaktion fällt negativ aus.

b) 50 ccm des Auszuges werden auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand mit heißem Wasser gelöst, dann 1 ccm konzentrierter HCl zugefügt und die Flüssigkeit auf $^1/_2$ Stunde im Autoklaven erhitzt.

Die Jafféche Reaktion ergibt ein stark positives Resultat.

Auch in den Froschmuskeln gibt sich also wie beim Hunde die Anwesenheit von Kreatin kund, während Kreatinin nicht aufzufinden ist.

Es scheint mir aus diesen Ergebnissen deutlich hervorzugehen, daß die Anwesenheit von präformiertem Kreatinin, wie sie von der Mehrzahl der Forscher angegeben wurde, mit der

jeweils von ihnen angewandten Versuchstechnik im Zusammenhange steht. Diese Technik — hier liegt der springende Punkt — schützt nicht davor, daß bestimmte Mengen von Kreatin während der Versuche selber sich in Kreatinin umwandeln. Zwei Umstände, die auf diese Umwandlung einen großen Einfluß ausüben, sind die Temperatur und die Reaktion der Flüssigkeit. Ich weise diesbezüglich auf die Tatsache hin, daß es bei dem Auszuge der Hundemuskeln genügt hat, denselben auf dem Wasserbade einzudampfen, um einen positiven Ausschlag der Jafféschen Reaktion zu erhalten, während diese im nicht erwärmten Teile des gleichen Auszuges negativ war.

Weiter möchte ich hier die von Cabella in diesem Laboratorium erhaltenen Ergebnisse an Muskelextrakten des Hundes, die nach der üblichen Methode des Auskochens und Eindampfens der Flüssigkeit zubereitet worden waren, anführen. An drei so hergestellten Muskelextrakten fand er im Extrakt 1: Kreatinin 0,1003 $^0/_0$ des Muskelgewebes; im Extrakt 2: Kreatinin 0,0754 $^0/_0$ des Muskelgewebes; im Extrakt 3: Kreatinin 0,1169 $^0/_0$ des Muskelgewebes. Im Gegensatze zu den von mir ohne Erwärmung hergestellten Muskelauszügen findet sich also in diesen, durch Auskochen bereiteten, eine beträchtliche Menge von Kreatinin.

Auf Grund dieser Ergebnisse habe ich bei den hier folgenden Versuchen am ermüdeten Muskel nur die Veränderungen des Kreatingehaltes in Betracht gezogen. Versuche über die Anwesenheit von Kreatinin im ermüdeten Muskel sind zur Kontrolle vorgenommen worden und werden am Schlusse hier mitgeteilt werden.

Zur Bestimmung des wechselnden Kreatingehaltes ist der Muskelextrakt nach der üblichen Methode mittels kochenden Wassers dargestellt worden. Diese Methode gibt ganz brauchbare Werte, wenn man die als Dishydratationsprodukte des Kreatins auftretenden Mengen Kreatinin berücksichtigt.

Verhalten des Kreatins während der Muskeltätigkeit.

Die Versuche sind an Froschmuskeln wie folgt vorgenommen worden.

1. Es sind gleichzeitig die ruhenden Muskeln eines Gliedes und die gereizten des entsprechenden Gliedes des gleichen Tieres untersucht worden.

2. Bei einigen Versuchen ist die Zirkulation ausgeschaltet worden, bei anderen bestanden normale Blutkreislaufsverhältnisse.

3. Die Bestimmung des Kreatins erfolgte nach Folins Methode, es wurde als Kreatinin bestimmt.

Bei den Versuchen mit ausgeschalteter Blutzirkulation sind den Versuchsfröschen die Hinterbeine samt einem Teile des Rückgrates abgeschnitten worden. Sodann wurde ein Hinterbein vom Becken losgetrennt und seine Muskelmasse entweder, während der Reizungsversuche am anderen Beine, sogleich verarbeitet, oder im Eisschranke aufbewahrt und zu den Kontrollbestimmungen verwendet. Die Arbeitsversuche an den am Rückgrate haften bleibenden Beinen sind in folgender Weise angestellt worden. Das Rückenstück wurde mittels einer auf einer Holzunterlage befestigten Metallklammer festgehalten. Das freie Ende des Beines ruhte hierbei auf einem Metallstäbchen. Diese Metallteile wurden zur Stromzuführung mit einem Du Bois-Reymondschen Schlitten verbunden.

Die Reizungen sind in verschieden langen Zeiträumen (von 3 Std. bis zu 4 Std. 40 Min.) mittels eines von Akkumulatoren gelieferten Stromes ausgeführt worden; die Stromstärke wurde durch den eingeschalteten Schlitten geregelt. Ein Kontakt-Metronom diente zur Öffnung und Schließung des Stromes, so daß rhythmische Reize bis zum Tetanus vollzogen werden konnten.

Um Versuche bei bestehendem Blutkreislaufe, unter möglichst normalen Verhältnissen vornehmen zu können, habe ich für die bezüglichen Experimente folgende Anordnung getroffen: Ein ca. 1 m langer Behälter von 15 cm Breite und 10 cm Höhe hatte als Deckel eine Glasscheibe. Auf dem Boden des Behälters waren vier Metalleisten angebracht, von denen je die erste und dritte an einen Pol des Schlittens, die zweite und vierte an den anderen Pol angeschlossen waren. Da die Entfernung der Leisten voneinander so bemessen war, daß ein Frosch, welche Stellung er auch immer einnehmen mochte, stets zwei verschiedenpolige Leisten berührte, mußte bei jeder Öffnung und Schließung des Metronoms der Strom das Tier erreichen, wodurch es zu einem Sprunge veranlaßt wurde.

Zur Bereitung der Extrakte ist das Muskelgewebe zu Brei zerhackt und dann auf 2 Std. mit physioligischer Koch-

salzlösung durchgeschüttelt, dann das Ganze in kochendes Wasser gegossen worden. Der Auszug wurde 3 mal wiederholt. Die Reaktion des Auszuges war neutral oder ganz schwach sauer, und in diesem letzteren Falle wurde neutralisiert. Die so gewonnene Flüssigkeit ist auf dem Wasserbade eingedampft worden, bis 3—4 ccm derselben einem Gramm des benutzten Muskelgewebes entsprachen. Dann wurde zur völligen Ausfällung der Proteine mit Essigsäure angesäuert, filtriert und der Rückstand mit kochendem Wasser nachgewaschen.

Die Umwandlung des Kreatins in Kreatinin ist jeweils an einem Teile des Auszuges im Autoklaven bei 115° während 30 Min., nach Zusatz von 20 ccm normaler HCl erzielt worden. Die Dosierung des so erhaltenen Kreatinins ist nach Folin vorgenommen worden, und zwar an Flüssigkeitsmengen, die das Ablesen am Colorimeter auf einer Höhe zwischen 4 und 7 mm zuließen.

Alle Analysen sind zum mindesten doppelt durchgeführt worden; die Schwankungen beim Ablesen hielten sich innerhalb 0,1 bis 0,2 mm.

Versuch 1.

Benutzt werden die Hinterbeine von 45 Fröschen. Jedem Tiere wird ein Bein am Becken abgetrennt und das Muskelgewebe dieser Glieder zur Kontrolle sogleich nach Einleitung der Reizversuche an den entsprechenden Beinen, wie oben angegeben, verarbeitet.

Die Reizversuche sind wie beschrieben in Gang gebracht worden. Es werden während $1^1/_2$ Std. 36 Öffnungs- und 36 Schließungsströme pro Min. zugeführt, dann die Versuchsglieder während 30 Min. ruhen gelassen, worauf sie weitere $1^1/_2$ Std. mit 55 Öffnungs- und Schließungsströmen pro Min. gereizt werden. Endlich folgten während 30 Min. lang rhythmische tetanisierende Ströme in der Zahl von 36 pro Min. Die Gesamtdauer des Versuches beläuft sich also auf ca. 5 Std. Darauf wurde das Muskelgewebe den Gliedern entnommen, zerhackt und weiter verarbeitet. Im Extrakte ist die Bestimmung des gesamten N, des Kreatins und Kreatinins vollzogen worden.

Ergebnisse: In den ruhenden Muskeln:

N des Extraktes:

0,4788 % des Muskelgewebes.

Kreatin (in Form von Kreatinin bestimmt):

0,3446 % des Muskelgewebes.

In den ermüdeten Muskeln:

N des Extraktes:

0,4956 % des Muskelgewebes.

Kreatin (wie oben bestimmt):

0,3114 % des Muskelgewebes.

Versuch 2.

Es werden die hinteren Extremitäten von 48 Fröschen verwendet. Das Kontrollglied jedes Paares wird während der Reizversuche im Eisschranke aufbewahrt.

Die Reizversuche verliefen wie folgt: Es wurde gereizt während $2^1/_2$ Std. mit 30 Öffnungs- und 30 Schlußreizen pro Min., dann während 30 Min. mit 60 rhythmischen tetanischen Reizen pro Min., darauf während 1 Std. mit je 50 Schließungs- und Öffnungsreizen pro Min., dann während 20 Min. mit 50 tetanischen rhythmischen Reizen pro Min., endlich während weiterer 20 Min. mit je 50 Öffnungs- und Schließungsreizen pro Min.

Ergebnisse: In den ruhenden Muskeln:

N des Extraktes:

0,553 % des Muskelgewebes.

Kreatin (als Kreatinin bestimmt):

0,314 % des Muskelgewebes.

In den ermüdeten Muskeln:

N des Extraktes:

0,5406 % des Muskelgewebes.

Kreatin (wie oben) 0,3190 % des Muskelgewebes.

Versuch 3.

Es werden die Hinterbeine von 10 Fröschen zur Untersuchung herangezogen, die Kontrollglieder gleich verarbeitet.

Reizversuch: Während $4^1/_2$ Std. 30 einzelne Schließungs- und 30 Öffnungsströme; dann während 30 Min. 30 rhythmische tetanisierende Ströme pro Min.

Ergebnisse: In den ruhenden Muskeln:

N des Extraktes:

0,5052 % des Muskelgewebes.

Kreatin (als Kreatinin bestimmt):

0,3206 % des Muskelgewebes.

In den ermüdeten Muskeln:

N des Extraktes:

0,5124 % des Muskelgewebes.

Kreatin (wie oben bestimmt):

0,3240 % des Muskelgewebes.

Versuch 4.

Versuchsmaterial: 10 lebende Frösche. Zur Kontrolle dienen die Hinterbeine, die einzeln, nach Unterbindung am Becken, den Tieren abgeschnitten worden waren.

Im Behälter werden die Tiere während 4 Std. mit 30 Öffnungs- und 30 Schließungsströmen pro Min. zum Springen gebracht, dann mit 40 rhythmischen tetanisierenden Strömen pro Min. gereizt.

Ergebnisse: In den ruhenden Muskeln:

N des Extraktes:

0,5488 % des Muskelgewebes.

Kreatin (als Kreatinin bestimmt):

0,3240 % des Muskelgewebes.

In den ermüdeten Muskeln;

N des Extraktes:

0,5392 % des Muskelgewebes.

Kreatin (wie oben bestimmt):

0,2842 % des Muskelgewebes.

Versuch 5

ist an 15 Fröschen, wie oben, vorgenommen worden.

Dauer des Reizversuches: 3 Std. mit je 30 Öffnungs- und Schließungsströmen pro Min.

Ergebnisse: In den ruhenden Muskeln:

N des Extraktes:

0,5096 % des Muskelgewebes.

Kreatin (als Kreatinin bestimmt):

0,324 % des Muskelgewebes.

In den ermüdeten Muskeln:

N des Extraktes:

0,5040 % des Muskelgewebes.

Kreatin (wie oben bestimmt):

0,294 % des Muskelgewebes.

Versuch 6.

Es sind die Hinterbeine von 20 Fröschen wie bei den Versuchen 1, 2 und 3 behandelt worden.

Reizversuch: $1^1/_2$ Std. mit 30 Schließungs- und 30 Öffnungsströmen pro Min., dann $1^1/_2$ Std. mit 40 rhythmischen tetanisierenden Strömen pro Min.

Ergebnisse: In den ruhenden Muskeln:

N im Extrakte:

0,5295 % des Muskelgewebes.

Kreatin (als Kreatinin bestimmt):

0,3146 % des Muskelgewebes.

In den ermüdeten Muskeln:

N des Extraktes:

0,5432 % des Muskelgewebes.

Kreatin (wie oben bestimmt):

0,3423 % des Muskelgewebes.

Bildet sich Kreatinin im Muskel während dessen Arbeitsleistung?

Es ist bei der angewandten Technik nicht möglich zu entscheiden, wieviel des aufgefundenen Kreatinins durch das Erhitzen bei der Bereitung der Extrakte aus dem Kreatin sich gebildet hat und wieviel eventuell im Muskelgewebe während der Arbeitsversuche entstanden ist. So erlauben diese Versuche aus dem angegebenen Grunde keinen Rückschluß auf die Bildung von Kreatinin bei der Muskeltätigkeit. Es ergab sich infolgedessen die Notwendigkeit, eine andere Versuchsreihe einzuleiten, bei der die Bestimmung des Kreatinins nach einer Methode vor sich gehen konnte, bei der die genannten Fehlerquellen ausgeschlossen sind. Deshalb sind in diesen Versuchen die Extrakte durch Auspressen, wie bei den anfangs mitgeteilten Vorversuchen, bereitet worden.

Versuch 7.

16 Fröschen werden die Hinterbeine mit einem Stück Rückgrat abgeschnitten. Im Reizversuche werden 4 Std. lang durch Induktionsstrom durchschnittlich 60 Reize pro Min. ausgeführt.

Alsdann wird das Muskelgewebe (60 g) mit Quarzstaub zerrieben, unter 300 Atmosphären ausgepreßt, dem Safte 50 ccm Wasser und 150 ccm 90° iger Alkohol beigemengt. Diese Flüssigkeit wird 3 Std.

durchgeschüttelt, im Eisschrank sich absetzen gelassen und dann filtriert. Volumen nach Auswaschen mit Alkohol: 300 ccm.

Ergebnisse: Kreatinin: An 75 ccm des so gewonnenen Extraktes (gleich 15 g Muskelgewebe) zeigt sich die Jafféscbe Reaktion negativ.

Kreatin: Nach Umwandlung in Kreatinin im Autokloven ist die Jafféscbe Reaktion stark positiv.

Versuch 8.

Hinterbeine von 20 Fröschen. Reizung derselben mit einheitlichen Induktionsströmen (60 pro Min.) während 4 Std., dann während 1 Std. mit 40 rhythmischen tetanisierenden Reizen pro Min. Die 61 g Muskelgewebe werden wie oben verarbeitet, dem Safte setzt man 100 ccm Wasser und 150 ccm Alkohol 96° zu. Das Ganze wird 4 Std. durchgeschüttelt, filtriert, durch Nachwaschen des Rückstandes mit Alkohol (90°) das Filtrat auf 300 ccm aufgefüllt.

Ergebnisse: Kreatinin: An 100 ccm des Extraktes (gleich 20 g Muskelgewebe) ist die Jaffésche Reaktion negativ.

Kreatin: Nach Umgestaltung in Kreatinin im Autoklaven zeigt sich die Jaffésche Reaktion stark positiv.

Versuch 9.

Einem Hunde wird während 1½ Std. der N. cruralis und der N. ischiadicus mit rhythmischen Strömen gereizt. 50 g der ermüdeten Muskeln werden, wie mehrmals erörtert, verarbeitet, der Saft mit 70° Alkohol verdünnt und 4 Std. durchgeschüttelt, filtriert, durch Nachwaschen des Rückstandes das Filtrat auf 300 ccm gebracht.

Ergebnisse: Kreatinin: Jaffésche Reaktion an 100 ccm Extrakt: negativ.

Kreatin: Nach Umwandlung im Autoklaven erweist sich die Reaktion an 50 ccm Extrakt als stark positiv.

Bei allen diesen Versuchen ist in den Muskeln der entsprechenden ruhenden Glieder, wie bei den Vorversuchen, absolut kein Kreatinin aufzufinden gewesen, obwohl bei der Extraktion eine beträchtliche Menge des wesentlich weniger löslichen Kreatins im Auszuge vorhanden war.

Die Ergebnisse der vorliegenden Versuche über das Verhalten des Kreatins während der Muskeltätigkeit sind in Tabelle I zusammengestellt. Die Werte derselben, die das Kreatin und den bezüglichen N bezeichnen, sind aus den jeweiligen Versuchszahlen berechnet worden.

Tabelle I.

Versuchs-Nr.	Ruhende Muskeln			Arbeitende Muskeln		
	Auf 100 g Muskelgewebe			Auf 100 g Muskelgewebe		
	Kreatin als Kreatinin bestimmt g	Kreatin g	Kreatin-N g	Kreatin als Kreatinin bestimmt g	Kreatin g	Kreatin-N g
1	0,3446	0,3994	0,1282	0,3114	0,3609	0,1159
2	0,3140	0,3640	0,1168	0,3190	0,3697	0,1187
3	0,3206	0,3717	0,1193	0,3240	0,3755	0,1206
4	0,3240	0,3755	0,1206	0,2842	0,3293	0,1058
5	0,3240	0,3755	0,1206	0,2940	0,3408	0,1094
6	0,3146	0,3646	0,1171	0,3423	0,3968	0,1274

Es geht aus dieser Tabelle hervor, daß in den ruhenden Muskeln der Gehalt an Kreatin zwischen 0,364 und 0,3994 % des Muskelgewebes schwankt. In den ermüdeten Muskeln bewegen sich diese Werte zwischen 0,3408 und 0,3968 % des Gewebes. Es entsprechen also die aufgefundenen Grenzwerte einander unter beiden Verhältnissen (Ruhe und Arbeit) beinahe vollkommen.

Diese Tatsache läßt sich auf zwei Weisen deuten: Entweder man nimmt an, die Verschiedenheiten der Ergebnisse sind mit der Darstellungstechnik des Kreatins in Beziehung zu bringen. Somit können die Schwankungen nicht als wirkliche Verschiedenheiten im Kreatingehalt angesehen werden. Oder man erkennt diesen Schwankungen eine reelle Bedeutung in bezug auf den wechselnden Kreatingehalt in den Versuchsmuskeln zu. In diesem Falle lassen sich die Ergebnisse nicht anders deuten als durch die Annahme, daß die Muskeln innerhalb der Grenzen der mitgeteilten Versuchsbedingungen imstande sind, einerseits Kreatin zu zerstören und andererseits schnell neue Mengen des Stoffes aus anderen im Muskel vorhandenen Körpern aufzubauen. Diese beiden Vorgänge würden sich dann in den Versuchsergebnissen bald nach der einen, bald nach der andern Richtung hin bemerklich machen, je nach dem Zeitpunkte, in dem der Versuch unterbrochen worden ist.

Die Tabelle II gibt eine Übersicht der Schwankungen der Prozentwerte des Kreatingehaltes bei den einzelnen Versuchen. Aber auch aus diesen Werten läßt sich nichts entnehmen, was den Beweis für die oben ausgeführte Möglichkeit einer neben-

Tabelle II.

Versuchs-Nr.	Kreatin-N auf 100 g Muskelgewebe			Differenzen des Kreatins
	Ruhender Muskel g	Arbeitender Muskel g	Differenz g	%
1	0,1282	0,1159	−0,0123	− 9,6
2	0,1168	0,1187	+0,0019	+ 1,54
3	0,1193	0,1206	+0,0013	+ 1,09
4	0,1206	0,1058	−0,0148	−12,28
5	0,1206	0,1094	−0,0112	− 9,29
6	0,1171	0,1274	+0,0103	+ 8,88

einander laufenden oder aufeinander rasch folgenden Zerstörung und Bildung von Kreatin erbringen könnte. Denn während bei den Versuchen 2 und 3 keinerlei Veränderungen im Kreatingehalt der ermüdeten Muskeln gegenüber dem der entsprechenden ruhenden zu verzeichnen waren, trat bei Versuch 6 eine Zunahme des Stoffes nach der Arbeitsleistung um 8,88 % ein. Diesem Ergebnisse stehen andererseits wieder unter ähnlichen Verhältnissen ausgeführten Versuchen 1, 4 und 5 Abnahmen im Kreatingehalt bei den arbeitenden Muskeln von 9,6 resp. 12,28 und 9,29 % gegenüber.

Wenn man nun aber die absoluten Differenzen ins Auge faßt, so ergibt sich als höchster Unterschied 0,01 % des Muskelgewebes; dieser ist zu gering, um die Erscheinung einwandfrei zu deuten.

Die Muskeln spielen unbedingt eine hervorragende Rolle bei dem Kreatin- und wahrscheinlich auch bei dem Kreatininstoffwechsel: Das Muskelgewebe enthält beinahe die gesamte Menge des im Organismus vorhandenen Kreatins, ferner steigt bei andauernder Muskeltätigkeit die Kreatininausscheidung merklich an, und es tritt Kreatin im Urin auf[1]). Ein weiterer Anhaltspunkt für diese Behauptung ist der Umstand, daß bei andauerndem Hunger beträchtliche Mengen von Kreatin ausgeschieden werden[2]). Dies geschieht im allgemeinen, nachdem

[1]) Oddi e Tarulli, Bollettino della real accademia medica di Roma **9**. — V. Scaffidi, Lo sperimentale **64**, 1910.

[2]) Benedikt and Myers, Americ. Journ. of Physiol. **18**. — Cathcart, diese Zeitschr. **6**. — Wolf und Oesterberg, diese Zeitschr. **36**. — V. Scaffidi, Lo Sperimentale **66**. — Mendel and Rose, Journ. of Biol. Chem. **10**.

der Reserve-N des Organismus aufgebraucht ist, d. h. wenn der N der organischen Verbindungen und somit hauptsächlich der N des Muskelgewebes angegriffen wird. Und endlich hat sich aus neueren Versuchen ergeben, daß die Leber, der allgemein die bedeutendste, ja von mancher Seite eine ausschließliche Rolle im Kreatinabbau zugesprochen worden ist, sich bei diesem Umsatz völlig inaktiv[1]) verhält. Alles dies weist darauf hin, daß der Muskelmetabolismus in inniger Beziehung zu den chemischen Umsetzungen des Kreatins und Kreatinins stehen muß oder zum mindesten zu den wichtigsten Vorgängen desselben. Es haben aber bisher die diesbezüglichen Versuche keineswegs den direkten Einfluß des Muskelgewebes auf diese Prozesse klarzulegen vermocht.

Auf Grund meiner hier vorgelegten Versuche muß man zum Schlusse kommen, daß das aus dem Muskelgewebe dargestellte Kreatinin (Liebig, Monari, Sarokow, v. Fürth und Schwarz) nicht als im Gewebe präformiert bestehend, oder in demselben während der Arbeitsleistung entstanden, gelten kann. Vielmehr ist alles von den genannten Forschern bei ihren Versuchen aufgefundene Kreatinin durch Dishydratation des Kreatins während der Muskelextraktbereitung gebildet worden. Ferner zeigen meine Versuche, daß das Verhalten des Kreatins während der Muskeltätigkeit in keiner Weise durch den Umstand beeinflußt wird, ob die normale Blutzirkulation im Gewebe bestehen blieb oder ob es sich um vom Organismus losgetrennte Muskeln handelt. Wir sind hier im Widerspruch zu den Angaben von Graham Brown und Cathcart. Bei meinen Versuchen habe ich gefunden, daß das Absinken der Kreatinmenge, wie sie in den arbeitenden Muskeln am lebenden Tiere sich zeigte, in gleichem Maße auch an den vom Körper isolierten Beinmuskeln nachgewiesen werden konnte.

Weiter geht aus meinen Versuchen hervor, daß während der Muskeltätigkeit Kreatinin in bestimmbaren Mengen nicht gebildet wird. Der in sehr geringem Grade entstehende Stoff

---

[1]) London und Boljarki, Zeitschr. f. physiol. Chem. 62. — Forster and Fischer, Journ. of Biol. Chem. 9. — Towles and Vögtlin, ebenda 10. — V. Scaffidi, Internat. Beitr. z. Pathol. u. Therap. d. Ernährungsstörungen, Stoffwechsel u. Verdauungskrankh. 1913. — Paton and Mackie, Journ. of Physiol. 45.

wird möglicherweise unmittelbar nach seiner Formation entfernt oder zerstört.

Zusammenfassung.

Auf Grund der hier vorgelegten Versuche ergeben sich folgende Schlüsse:

1. In den Muskeln des Frosches und des Hundes (und sehr wahrscheinlich im Muskelgewebe überhaupt) ist Kreatinin als präformierter chemischer Bestandteil nicht vorhanden.

2. In den Muskeln des Frosches tritt nach der Arbeitsleistung kein Kreatinin auf.

3. Dieser Stoff wird also während der Arbeitsleistung des Muskels in diesem nicht gebildet, oder (was wohl als wahrscheinlicher angenommen werden kann), er wird sofort nach seiner Entstehung entfernt oder zerstört.

4. Unter den gleichen Versuchsverhältnissen zeigt die Menge des Muskelkreatinins gewisse Schwankungen, deren Grenzwerte im ruhenden und im arbeitenden Muskel einander entsprechen.

Diese Tatsache deutet darauf hin, daß diese Schwankungen im arbeitenden Muskel nicht auf die Versuchsbedingungen (Arbeitsleistungen) bezogen werden dürfen.

5. Es ergibt sich also, daß das Muskelkreatin während der Muskeltätigkeit keine nennenswerten Veränderungen erleidet. Die Möglichkeit ist aber nicht von der Hand zu weisen, daß einerseits der Stoff im Muskel bei der Arbeitsleistung aufgebraucht und andererseits in demselben neues Kreatin aus den Spaltungsprodukten der Muskelproteine aufgebaut werde.

6. Bei den Versuchen an Froschmuskeln übt das Fortbestehen des Blutkreislaufs oder seine völlige Ausschaltung durch Lostrennen der Glieder, keinerlei Einfluß auf den Kreatinumsatz während der Muskelarbeit.

Weitere Beiträge zur Theorie der Vitalfärbung.

Von

Rudolf Höber und Otto Nast.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Kiel.)

(Eingegangen am 25. März 1913.)

I. Vitalfärbung und Dispersität der Farbstoffe.

Vor 5 Jahren hat der eine von uns darauf aufmerksam gemacht, daß bei der vitalen Färbbarkeit von Zellen auch der Dispersionsgrad der Farbstoffe von Bedeutung ist. Er zeigte mit F. Kempner[1]) und mit S. Chassin[2]), daß es unter den zahlreichen Säurefarbstoffen, die zwar im allgemeinen in lebende tierische Zellen nicht sichtlich hineingehen, die aber speziell von gewissen Nierenepithelien reichlich gespeichert zu werden pflegen, doch einige gibt, die auch in die Nierenepithelien nicht eindringen können, und daß diese selben Farbstoffe die Eigenschaften von Suspensoiden haben. Er faßte die damaligen Erfahrungen an 32 Säurefarbstoffen in die beiden Sätze zusammen: „1. Wenn ein Farbstoff von den Epithelien der Niere nicht aufgenommen werden kann, dann ist er hochkolloid. 2. Wenn ein Farbstoff wenig bzw. halbkolloid ist, so wird er leicht aufgenommen."

Bald darauf veröffentlichte W. Ruhland[3]) eine Abhandlung, in der er darzulegen versuchte, daß der von Höber aufs Tapet gebrachte Dispersionsgrad der Farbstoffe keine weitertragende Bedeutung für die Vitalfärbung haben könne. Als Argument führte er Färbeversuche an Spirogyren an, aus denen zu entnehmen war, daß Säurefarbstoffe, welchen Grad der Dis-

---

[1]) R. Höber und F. Kempner, diese Zeitschr. **11**, 105, 1908.

[2]) R. Höber und S. Chassin, Zeitschr. f. Chem. u. Ind. d. Koll. **3**, 76, 1908.

[3]) W. Ruhland, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. **26a**, 772, 1909.

persität sie auch haben mögen, die Pflanzenzellen nicht vital färben, während basische Farbstoffe sie bei jedem Grad der Aufteilung färben. Daraus deduzierte Ruhland, daß Höbers Resultate bei der Färbung der Nierenepithelien wohl mehr Zufallsergebnis wären, als daß sie einen hinreichenden Beweis für die Bedeutung der Kolloidität der Farbstoffe darstellten.

Danach untersuchte Höber[1]) die Färbbarkeit der Nierenepithelien mit weiteren 34 Säurefarbstoffen und kam zu dem gleichen Ergebnis, daß ein Säurefarbstoff nur dann, wenn er Suspensionscharakter hat, in die Nierenepithelien nicht einzudringen vermag. Von jetzt ab konnte die Bedeutung des Dispersionsgrades der Farben für die Vitalfärbung nicht mehr zweifelhaft sein. Höber hat aber bei dieser Gelegenheit ebensowenig wie früher der Dispersität eine grundsätzliche Bedeutung für jeden Fall der Vitalfärbung beigelegt. Seine Resultate waren Spezialerfahrungen an der Niere, die sich einerseits nur auf Säurefarbstoffe bezogen, und nicht auf basische Farbstoffe, deren Verhalten Ruhland entgegenhielt, und die andererseits zunächst allein für das Objekt der Niere galten, und nicht für die Spirogyren, mit denen Ruhland experimentierte, zu gelten brauchten.

Im Jahre 1911 machte sodann Ernst Küster[2]) die überraschende Entdeckung, daß, wenn man die Durchlässigkeit der Pflanzenzellen für die Farbstoffe nicht in der Weise untersucht, wie es fast alle Forscher vor ihm getan haben, nämlich so, daß man Algen, Wurzeln von Wasserpflanzen oder Schnitte von Pflanzenteilen in die Lösungen einlegt, sondern wenn man in der Art vorgeht, daß man ganze Sproßteile in die Lösungen hineinstellt und diese nun von der Schnittfläche aus imbibieren läßt, daß dann zahlreiche Säurefarbstoffe, für die bis dahin die Pflanzenzelle als impermeabel gegolten hatte, in die Zellen des Parenchyms hineingehen. Als dann Küster auf Höbers Anregung Farbstoffe verschiedener Dispersität prüfte, zeigte sich, daß in ganz ähnlicher Weise wie bei den Nierenepithelien, nur in noch ausgesprochenerem Maße, Durchlässigkeit und Kolloidcharakter einander antibat sind. Küster pflichtete Höber daher gegen Ruhland bei, daß die Kolloidität

[1]) R. Höber, diese Zeitschr. 20, 56, 1909.

[2]) E. Küster, Jahrb. f. wissenschaftl. Botan. 50, 261, 1911.

der Säurefarbstoffe einen wichtigen Faktor für ihre Fähigkeit, in die Zelle einzudringen, repräsentiert.

Im vorigen Jahre teilte sodann Schulemann[1]) im Anschluß an Versuche von Goldmann[2]) über die vitale Färbbarkeit gewisser lymphoider Zellen, der Kupfferschen Sternzellen der Leber, der interstitiellen Zellen des Hodens u. a. mit Säurefarbstoffen mit, daß von zahlreichen Säurefarbstoffen sich zur Tinktion der genannten Zellen diejenigen nicht eigneten, die suspensionskolloide Lösungen bilden.

Endlich erschienen dann vor kurzem zwei neue Abhandlungen von W. Ruhland[3]), in denen er den bisherigen ablehnenden Standpunkt in der Frage des Zusammenhanges von Permeabilität und Dispersität verläßt. Er hat die Küsterschen Versuche aufgegriffen, sie auf eine große Zahl von Säurefarbstoffen ausgedehnt, Versuche mit basischen Farbstoffen hinzugefügt und vertritt nunmehr, da „es glückte, das die Aufnehmbarkeit der Farbstoffe in die Zellen ohne Ausnahme und allein beherrschende Prinzip zu finden, welches namentlich auch die basischen Verbindungen umfaßt“, den gerade entgegengesetzten Standpunkt wie früher, nämlich: „Die überraschende Parallelität zwischen Aufnehmbarkeit sowohl der basischen wie der Säurefarbstoffe in die lebende Pflanzenzelle und der Beweglichkeit der Farbstoffteilchen in Gelen zeigt, daß lediglich die Größe der Teilchen für ihre Aufnehmbarkeit entscheidend ist. Die Plasmahaut wirkt somit als Ultrafilter in dem von Bechhold gebrauchten Sinne“[4]). Diese neue Lehre von der ausschließlichen Bedeutung der Dispersität der Farbstoffe für die Vitalfärbung begründet Ruhland im einzelnen folgendermaßen:

1. Bisher galt, daß alle basischen Farbstoffe vital färben können; Ruhland findet bei der Prüfung von 30 basischen Farbstoffen an den beiderseitigen Epidermen der Zwiebelschuppen von Allium cepa und bei Spirogyren, daß die basischen Farbstoffe Viktoriablau 4 R und B, Basler Blau R

[1]) W. Schulemann, Arch. d. Pharmazie 250, 252, 1912.

[2]) E. Goldmann, Die äußere und innere Sekretion des Organismus im Lichte der „vitalen Färbung“. Tübingen 1909 und 1912.

[3]) W. Ruhland, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 30, 139, 1912 und Jahrb. f. wissenschaftl. Botan. 51, 376, 1912.

[4]) l. c. S. 139 bzw. 378 u. 409.

und BB, Gallaminblau und Nachtblau nicht, und daß Diazingrün und Viktoriablau R nur langsam in die Zellen hineingehen. Dem entspricht das von Ruhland in erster Linie in Rechnung gezogene Kriterium der Dispersität, nämlich die Diffusibilität in Gelatine-Gel; im Gegensatz zu der großen Zahl der leicht und stark vital färbenden Basen breiten sich die nach Ruhland in die Zellen nicht eindringenden Basen gar nicht, die langsam eindringenden nur langsam von ihren Diffusionszentren aus in die Gallerte aus.

2. Beim Vergleich von 89 Säurefarbstoffen ergibt die Küstersche Methode, hauptsächlich an jungen Pflanzen von Vicia Faba angewendet, einen durchgehenden Parallelismus zwischen Diffusibilität und vitalem Färbevermögen.

3. Ruhland findet, daß die basischen Farbstoffe, soweit sie vital färben, „außerordentlich viel schneller" gespeichert werden als die Säurefarbstoffe. Das bedeutet nach Ruhland nicht etwa eine größere Permeabilität der Plasmahaut für die Farbbasen, diese wird vielmehr nur dadurch vorgetäuscht, daß die eindringenden Basen sofort von Säuren des Zellsaftes, besonders der Gerbsäure, abgefangen und neutralisiert werden, während die Säurefarbstoffe nur langsam durch eine in einer Dispersitätsverringerung bestehenden Kolloidreaktion im Zellinnern festgelegt werden; im ersten Falle begünstigt alsdann ein stets steiles Diffusionsgefälle von außen nach innen den Eintritt, während im zweiten Falle das Diffusionsgefälle nur geringe Neigung hat.

4. Wenn die Säurefarbstoffe Spirogyren, Wurzeln von Wasserpflanzen, Schnitte von allen möglichen Pflanzenteilen im allgemeinen nicht vital färben, während die Färbung vom intakten Innern der Pflanzen her mit Hilfe der Küsterschen Methode glückt, so beruht das nach Ruhland auf folgendem: Schon Küster hat darauf hingewiesen, daß bei seiner Methode die Transpiration der Pflanzenteile eine deutliche Rolle spielt, die Vitalfärbung fällt um so kräftiger aus, je größer die Transpiration. Dies ist sehr wohl zu verstehen; denn durch die Transpiration wird die Farblösung von der Schnittfläche her emporgesaugt, und indem das Wasser oben forttranspiriert, staut sich der Farbstoff an der Zelloberfläche. Ruhland schließt daraus, daß bisher eine Vitalfärbung mit Säurefarbstoffen bei

Pflanzenzellen im allgemeinen nicht erzielt wurde, weil bei den bis dahin eingehaltenen Versuchsbedingungen die Transpiration fehlte.

Soviel zunächst vom Inhalt der Ruhlandschen Abhandlung. Wir werden nun zu zeigen versuchen, daß unserer Ansicht nach Ruhland jetzt ins gegenseitige Extrem zu seiner bisherigen Stellungnahme in der Frage der Vitalfärbung umschlägt und nun der Dispersität der Farbstoffe eine übertrieben große Bedeutung beilegt.

Bevor wir aber an die Kritik von Ruhlands neuer Theorie der Vitalfärbung gehen, ist es nötig, kurz bei den bisherigen Anschauungen von dem Wesen der Vitalfärbung zu verweilen.

II. Die Lipoidtheorie der Vitalfärbung.

Bekanntlich geht der Grundgedanke der einzigen bisher existierenden Theorie der Vitalfärbung auf Ehrlichs weit zurückliegende, gleich in ihrer Tragweite genial erfaßte Beobachtung[1]) zurück, daß die Farbbasen ebenso wie auch ungefärbte organische Basen häufig zugleich neurotrop und lipotrop sind. Damit war zum erstenmal in die Biologie das Verteilungsprinzip eingeführt, dem später Overton durch seine ausgedehnten Experimentalstudien und deren Krönung, die Lipoidtheorie, die hervorragende Stellung in der Physiologie der Zelle zu erobern suchte, die ihr heute vielfach streitig gemacht wird. Overton lehrte ja, daß jede Zelle zu jeder Zeit für Stoffe, die lipoidlöslich sind, durchlässig ist, und daß der Grad der Durchlässigkeit durch den Grad der relativen Lipoidlöslichkeit bestimmt ist, und es ist geradezu erstaunlich, welch große Zahl von Stoffen, die lipoidlöslich sind, entsprechend dieser Lehre wahllos in Eizellen, beliebige Pflanzenzellen, Blutkörperchen, Muskeln, Darmzellen u. a. hineingehen[2]). Overton glaubte seiner Theorie den Schlußstein hinzuzufügen, als er auf den Zusammenhang von Vitalfärbung und Lipoidlöslichkeit der Farben verwies. Auch dabei ist es ja wiederum auffallend, wie die häufigst verwendeten lipoidlöslichen basischen Farb-

---

[1]) P. Ehrlich, Zur therapeutischen Bedeutung der substituierenden Schwefelsäuregruppe. Therap. Monatsh. 1887. — Konstitution, Verteilung und Wirkung chemischer Körper. Leipzig 1893.

[2]) Siehe die Zusammenstellung in R. Höber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 3. Aufl. 1911, Kap. 6 u. 7.

stoffe, wie etwa Neutralrot und Toluidinblau, sofort und überall hineingehen, in Blutkörperchen, Epithelien der Haut, der Zunge, der Nickhaut, in Leber, Pankreas, Niere, in beliebige Pflanzenzellen u. a., während, wenn man die lipoidunlöslichen Säurefarbstoffe in Tiere injiziert, es immer von neuem frappiert, wie das Gros der Organe, wie dieselben eben genannten Gebilde fast ausnahmslos, vor allem mit Ausnahme gewisser Nierenzellen, farblos bleiben, und nur gewisse unscheinbarere Zellen, wie die Kupfferschen Sternzellen oder gewisse Wanderzellen des Bindegewebes, sich allmählich tingieren.

Aber Ruhland[1]) hat dann darauf aufmerksam gemacht, daß gegenüber dem Verhalten einiger Farben die Lipoidtheorie versagt. Von seinen Einwänden ist nach Höbers Nachprüfung (l. c.) folgendes übriggeblieben: Die ca. 25 untersuchten basischen Farbstoffe färben samt und sonders vital; darunter befinden sich jedoch drei, die vital färben, obwohl sie lipoidunlöslich sind, nämlich Thionin, Methylengrün und Methylgrün Krystalle I. Wir werden sehen, daß Ruhland neuerdings 5 Farbbasen anführt, die umgekehrt trotz Lipoidlöslichkeit nicht färben sollen; wir werden jedoch zeigen, daß diese Angaben von Ruhland nicht einwandfrei sind.

2. Unter einer sehr großen Zahl von Sulfosäurefarbstoffen befindet sich ein einziger, Echtrot A, der lipoidlöslich ist und doch in das Gros der Zellen nicht nachweislich eindringt.

3. In einer besonderen Gruppe der Säurefarbstoffe, die nicht Sulfosäurefarbstoffe sind, in der Gruppe der Phthaleine, gibt es einige, die trotz Lipoidlöslichkeit nicht färben, nämlich Rose bengale, Cyanosin, Erythrosin und Gallein.

Danach ist zuzugestehen, daß die Lipoidtheorie zur Erklärung der Vitalfärbung wohl im großen ganzen, aber doch nicht vollauf befriedigt. Wir wollen nun sehen, ob die von Ruhland aufgestellte Theorie, nach der die Plasmahaut den Farben, basischen wie sauren, gegenüber als Ultrafilter fungiert, mehr leistet.

III. Kritik der Theorie von Ruhland.

1. Das Verhalten der basischen Farbstoffe.

Wie bereits gesagt wurde, machte Ruhland zum erstenmal die Angabe, daß es auch basische Farbstoffe gibt, die

[1]) W. Ruhland, Jahrb. f. wissenschaftl. Botan. 46, 1, 1908.

nicht geeignet sein sollen, vital zu färben. Es sind dies Viktoriablau 4 R und B, Basler Blau R und BB, Gallaminblau und Nachtblau. Die Lipoidtheorie vermag dafür nach Ruhland keine Erklärung zu geben; denn die Farben sind bis auf Gallaminblau in Lipoiden (Cholesterin-Terpentin) leicht löslich. Die Ultrafiltertheorie steht mit den genannten Beobachtungen in Einklang; denn die Farben sind in 20%iger Gelatinegallerte indiffusibel, und das charakterisiert sie nach Ruhland auf die einfachste Weise als grobdispers.

Wir haben nun die genannten Farben ebenfalls verwendet[1]) und sind zu ganz anderen Ergebnissen gelangt.

Vor allem haben wir gefunden, daß die genannten Farben mit der alleinigen Ausnahme des Gallaminblaus tierische Zellen vital färben. Allerdings gelingt die Färbung zum Teil erheblich schwerer als sonst bei den basischen Farbstoffen. Auf die Gründe dafür werden wir nachher zu sprechen kommen. Wir haben folgende Versuche ausgeführt:

Basler Blau R (Durand & Huguenin).

a) In Substanz an Frösche verfüttert: In der Darmschleimhaut findet man hier und da Epithelzellen, die in der typischen, oft beschriebenen Weise[2]) im farblosen Protoplasma um den farblosen Kern herum blaugefärbte Granula aufweisen.

b) Im Enddarm eines gefütterten Frosches fanden sich einige lebende blaugefärbte Infusorien.

c) Der Farbstoff wird bis zur Sättigung in Ringer-Lösung gelöst und dann in eine freigelegte, doppelt ligierte Darmschlinge injiziert, darauf die Bauchhöhle wieder geschlossen. Nach 24 Stunden findet sich im Epithel typische Granulafärbung.

d) Der Farbstoff wird in den Rückenlymphsack von Fröschen gebracht; nach 24 bis 48 Stunden findet man gefärbte Granula in sämtlichen Abschnitten der Nierenkanälchen.

e) Frösche werden durch Curare gelähmt und dann die herausgestülpte Zunge, am Ende mit einem kleinen Glasgewicht beschwert, in eine gesättigte Lösung des Farbstoffes in destilliertem Wasser gehängt. Die Blutzirkulation bleibt in der Zunge gewöhnlich ausgezeichnet erhalten, aber eine Granulafärbung in den Epithelien wurde nicht sicher erzielt.

---

[1]) Den im folgenden genannten Fabriken sind wir für die Überlassung der Farbproben zu großem Dank verpflichtet.

[2]) Abbildungen siehe bei J. Arnold, Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss., Mathemat.-naturwiss. Kl., 1911.

f) Ebensowenig färben sich bei dem gleichen Verfahren die Nickhautdrüsen von der Lösung aus, in die der Kopf eintauchte.

Basler Blau BB (Durand & Huguenin).

a) Nicht nach Verfütterung, wohl aber nach Injektion der konzentrierten Lösung in eine Darmschlinge gelingt es in 3 Versuchen, fein gefärbte Granula im Darmepithel nachzuweisen.

b) Infusorien aus einem Heuinfus starben in der Farblösung sofort.

c) Eine distinkte Färbung der Nieren gelingt weder nach Einbringung der Farbe in den Rückenlymphsack, noch nach Injektion von Lösung in die Abdominalvene.

d) Auch Zungenepithel und Nickhautdrüsen lassen sich nicht färben.

Viktoriablau B (Bad. Anilinfabrik).

a) Nach Verfütterung an Frösche findet man schöne Granulafärbung im Darmepithel.

b) Eine bestimmte Infusorien-Art aus dem Enddarm der Frösche (Opalinen?) sieht man, diffus blau gefärbt, umherschwimmen, andere Arten bleiben ganz ungefärbt.

c) In den Nierenepithelien findet man sowohl nach Einbringung der Farbe in den Rückenlymphsack, als auch nach intravenöser Injektion intensiv gefärbte Granula, und zwar vorwiegend in den dritten und vierten Abschnitten der Kanälchen, weniger in den zweiten.

d) Auch im Epithel der Froschzunge gelingt mit dem vorher geschilderten Verfahren der Nachweis von gefärbten Granula.

Viktoriablau 4 R (Bad. Anilinfabrik).

Die Versuche an den Fröschen sind dadurch erschwert, daß die Farbe viele der Tiere rasch tötet.

a) Sowohl nach Verfütterung in Substanz sowie nach Injektion der Lösung in eine abgebundene Darmschlinge findet man schöne distinkte Granulafärbung im Epithel.

b) Lebende Infusorien aus dem Enddarm enthalten blaue Granula.

c) Nach Einbringung der Farbe in den Rückenlymphsack oder nach intravenöser Injektion desselben starben die Frösche, so daß auf diese Weise der Übergang in die Nierenepithelien diesmal nicht nachgewiesen werden konnte. Aber nach Verfütterung wurden in einem Versuch blaue Granula im Nierenepithel vorgefunden.

d) Im Zungenepithel können 24 Stunden nach dem Einhängen in die Lösung in vereinzelten Zellen blaue, um den ungefärbten Kern herumgelagerte Granula nachgewiesen werden.

e) Auch in dem Epithel der Nickhautdrüsen finden sich nach dem Eintauchen des Kopfes in die Lösung blaue Granula.

Nachtblau (Bad. Anilinfabrik).

Nachtblau ist für die Frösche außerordentlich giftig. Daran scheitern vor allem sämtliche Injektionsversuche.

a) Nach Verfütterung findet man das Darmepithel oft nur diffus gefärbt, aber in einzelnen Fällen auch deutliche und typische Granulafärbung.

b) Färbung des Nierenepithels gelingt nicht.

c) Im Zungenepithel findet man nach 24 stündiger Versuchsdauer ab und zu eine Epithelzelle mit typisch um den farblosen Kern gelagerten blauen Granula.

Gallaminblau (Geigy).

Alle Versuche, mit Gallaminblau eine Vitalfärbung zu erzielen, schlagen fehl.

Außer mit diesen 6 Farbstoffen wurden noch Versuche mit Viktoriablau R (Bad. Anilinfabrik) und mit Diazingrün (Kalle) ausgeführt, von denen Ruhland angibt, daß sie, entsprechend einer relativ geringen Diffusibilität, auch nur langsam in die lebenden Pflanzenzellen eindringen. Mit Viktoriablau R erhielten wir beim Frosch schöne Granulafärbung im Darmepithel, in den dritten und vierten Abschnitten der Nierenkanälchen und im Zungenepithel. Mit Diazingrün ließen sich trotz seiner großen Giftigkeit in der typischen Weise Epithelien von Darm, Niere, Nickhaut und Zunge, auch Infusorien färben.

Überblicken wir diese Ergebnisse, so zeigt sich, daß sie mit der Lipoidtheorie der Vitalfärbung in Übereinkunft stehen. Die 5 Farben von Ruhland, die in Cholesterin-Terpentin leicht löslich sind, färben, das nicht lösliche Gallaminblau färbt nicht.

Für das Verhalten des Gallaminblaus ist freilich noch etwas anderes zu berücksichtigen. Wie bereits gesagt wurde, war bisher kein einziger basischer Farbstoff bekannt, ob lipoidlöslich oder lipoidunlöslich, der nicht vital gefärbt hätte; das Gallaminblau wäre der erste. Nun betrachtet Ruhland das von ihm und uns verwendete Gallaminblau der Firma Geigy aber irrtümlich als Base. Denn wir fanden, daß es im Potentialgefälle, in Wasser gelöst, zur Anode geht, und nicht zur Kathode. So schließt sich also auch in dieser Hinsicht das Gallaminblau glatt an die bisherigen Erfahrungen mit dem Färbevermögen der Basen an[1]).

Es bleibt aber noch zu erörtern, aus welchen Gründen bei den Ruhlandschen Farben der Eintritt in die tierischen Zellen so sehr erschwert ist, und im Zusammenhang damit natürlich,

[1]) Übrigens zitiert Ruhland zu den bisher bekannten drei Farbbasen, die vital färben und dennoch lipoidunlöslich sind (siehe S. 423), noch das Neublau R (Geigy); wir finden jedoch, daß es schon bei gewöhnlicher Temperatur Cholesterin-Terpentin kräftig rosa färbt.

warum die Pflanzenzellen, die Ruhland diesen exponierte, sich gar nicht färbten. Es fiel uns gleich zu Beginn unserer Untersuchungen auf, daß sich ein Teil der Ruhlandschen Farben in Wasser viel schlechter löst, als das sonst bei den Farbbasen der Fall ist; die konzentrierten Lösungen von Basler Blau BB, von Viktoriablau R und von Gallaminblau in Wasser, das in Glasgefäßen destilliert ist, sind ziemlich durchsichtig. Was wichtiger ist, ist jedoch die enorme Elektrolytempfindlichkeit dieser Basen. Versucht man, dieselben in Ringerscher Lösung (0,65 % NaCl, 0,03 % $CaCl_2$, 0,02 % KCl) zu lösen, so fallen Basler Blau R, Viktoriablau R und B, sowie Nachtblau fast vollständig aus und die Löslichkeit von Basler Blau BB und von Viktoriablau 4 R wird ganz erheblich vermindert. Wir haben die Löslichkeitsversuche mit Ringer-Lösung ergänzt durch Fällungsversuche mit Natriumsulfat, also einem Salz mit zweiwertigem Anion als Fällungsion für die kathodischen Farbbasen. Die folgende Tabelle gibt das Ergebnis. Es wurden stets 2 ccm der 0,01 %igen bzw. konzentrierten wässerigen Farblösungen mit 2 ccm Salzlösung von der in der ersten Kolonne verzeichneten Normalität versetzt und nach 24 Stunden protokolliert. Die Anzahl der +-Zeichen gibt ein Maß für den Grad der Fällung:

Fällung mit Natriumsulfat.

Normalität	Basler Blau BB	Basler Blau R	Viktoriablau 4 R	Viktoriablau B	Viktoriablau R	Nachtblau	Diazingrün	Toluidinblau	Brillant-cresylblau	Neutralrot	Methylenblau Ia D
1,0	+++	+++	+	+	+	++	–	–	–	–	–
0,5	+++	++	+	+	+	++	–	–	–	–	–
0,2	+++	+	+	+	+	++	–	–	–	–	–
0,1	+++	+	++	–	–	++	–	–	–	–	–
0,05	+++	+	++	–	–	+	–	–	–	–	–
0,02	++	–	++	–	–	–	–	–	–	–	–
0,01	++	–	++	–	–	–	–	–	–	–	–
0,005	+++	–	++	–	–	–	–	–	–	–	–

Diese Elektrolytempfindlichkeit paßt ja nun durchaus zu den von Ruhland ausgeführten Versuchen über die Diffusibilität der Farben in Gelatine-Gel; die genannten Basen sind eben hochkolloid. Aber es erhebt sich die Frage, ob nicht der Nichteintritt dieser Basen bei den Pflanzenzellen und der langsame

Eintritt bei den tierischen Zellen darauf beruhen könnte, daß die Farben, bevor sie die Plasmahaut erreicht haben, ganz oder fast ganz ausgefallen sind, so daß die Ultrafilterfunktion, die Ruhland der Plasmahaut beimißt, nicht in Frage käme. Ruhland könnte zunächst darauf erwidern, daß der eine von uns ja bei seinen früheren Versuchen mit Säurefarbstoffen von der verschiedengradigsten Dispersität aus dem Nichteintritt exquisit suspensoider Farben in die Nierenzellen den Schluß gezogen habe, daß deren Importvermögen für Säurefarbstoffe eben an einer gewissen (ultramikroskopischen) „Grobkörnigkeit" scheitert. Aber da wurde auch mit dem Mikroskop extra festgestellt, daß auch die Suspensionskolloide ungefällt bis an die Zelloberfläche gelangen; spritzt man z. B. einen so elektrolytempfindlichen Farbstoff, wie das Diamingrün B[1]), einem Kaninchen in Lösung in die Blutbahn, so sieht man die Blutgefäße der Nieren eventuell mit einem hellgrasgrünen, durchsichtigen Inhalt erfüllt, von Fällung ist nichts zu bemerken[2]). Es mag sein, daß die Eiweißkörper des Blutes den Suspensoiden da einen gewissen Schutz gewähren, und der Mangel solch eines Schutzes ist vielleicht mit ein Grund für die Unterschiede zwischen Tier- und Pflanzenzelle, die Ruhland und wir konstatieren. Jedenfalls bekommen wir ja in die von uns untersuchten Zellen die Ruhlandschen Basen alle hinein, trotz ihrer hohen Elektrolytempfindlichkeit, während wir die Säurefarbstoffe von der gleichen Empfindlichkeit nie hineinbrachten. Es mag auch sein, daß die Cellulosehülle bei den Pflanzenzellen eben doch ein Hindernis repräsentiert. Ruhland negiert das zwar, es bleibt uns aber noch zweifelhaft, ob nicht doch pflanzliche Elektrolyte noch innerhalb der Cellulosehaut dem Vordringen der kolloiden Farbbasen durch Ausfällung ein Ziel setzen. Leider konnten wir uns während des Winters keine guten Spirogyrenkulturen verschaffen, um an einem Ruhlandschen Objekt eine Nachprüfung vorzunehmen; es ist merkwürdig, daß Ruhland die große Elektrolytempfindlichkeit der verwendeten kolloiden Basen, die ihm kaum entgangen sein kann, gar nicht diskutiert, d. h. beweist, daß sie keine Bedeutung bei seinen Versuchen hatte.

---

[1]) R. Höber und S. Chassin, l. c.

[2]) R. Höber, diese Zeitschr. 20, 93.

Wir kommen also zu dem Schluß, daß die Ultrafiltertheorie der Vitalfärbung von Ruhland in den Versuchen mit Farbbasen an tierischen Zellen keine Stütze findet. Die Dispersität der Farbbasen spielt wohl eine Rolle, sie beeinflußt die Aufnahmegeschwindigkeit, aber hauptsächlich wohl insofern, als die Zellen die kolloiden lipoidlöslichen Farben aus einer Lösung zu entnehmen haben, die teils wegen der geringen Löslichkeit dieser kolloiden Farben, teils wegen partieller Ausfällung durch anwesende Elektrolyte nur von sehr geringer Konzentration ist. Wir hätten also ähnliche Verhältnisse vor uns, wie sie etwa Overton bei seinen Narkoseversuchen mit Azobenzol oder Phenanthren vor sich hatte[1]). Diese dringen trotz sehr großer relativer Lipoidlöslichkeit nur sehr langsam bis zur narkotischen Grenzkonzentration in Zellen ein, es vergehen Tage, bis Narkose zustande kommt. Das liegt aber allein daran, daß diese Stoffe außerordentlich wenig löslich in Wasser sind, so daß die Zellen sich nur ganz langsam aus einem großen Lösungsquantum mit der zur Narkose notwendigen Menge laden können. Nach dem Gesagtem halten wir die Ultrafiltertheorie aber auch für die Pflanzenzellen, soweit sie deren Verhalten zu den basischen Farbstoffen betrifft, für nicht hinlänglich bewiesen.

2. Das Verhalten der Säurefarbstoffe.

Seitdem von Küster und anschließend von Ruhland gezeigt worden ist, daß, im Gegensatz zu fast allen bis dahin gesammelten Erfahrungen, es auch bei Pflanzen eine Vitalfärbung mit Säurefarbstoffen gibt, ist die Situation in der Pflanzenphysiologie ganz ähnlich, wie diejenige in der Physiologie der Tiere: während man eigentlich wahllos mit jeder basischen Farbe jede Zelle vital färben kann, gelingt dies mit vielen suspensoiden Säurefarbstoffen nie und mit den hoch- bis molekulardispersen Säurefarbstoffen nur unter bestimmten Verhältnissen oder an bestimmten Orten. So gelingt es, von der Blutbahn her gewisse Nierenepithelien mit zahlreichen Säurefarbstoffen zu beladen, so gelingt es, unter Umständen die Zellen der Speicheldrüsen mit Indigkarmin anzufärben, so ge-

[1]) E. Overton, Studien über die Narkose 1901, S. 125.

lingt es, gewissen Pflanzenzellen von den Gefäßbündeln aus viele Säurefarbstoffe zuzuführen. Dagegen glückt es nicht, Zungenschleimhaut- oder Darm- oder Hautepithelien, die in der Lösung irgend eines Säurefarbstoffes gebadet werden, zu färben, und es glückt nicht, die Farbstoffe in Algen, die in der Lösung liegen, hineinzubringen. Wie kommt das? Wie ist es zu erklären, daß im Gegensatz zu ihrem Verhalten gegenüber den Farbbasen die einen Zellen die Säurefarbstoffe aufnehmen, die anderen nicht?

Ruhland gibt darauf, wie wir schon sahen, folgende Antwort: Wenn Algen oder Schnitte von Pflanzenteilen in der Lösung eines Säurefarbstoffes sich nicht färben, während Sprosse, die man mit der Schnittfläche in die Lösung eintaucht, sich färben, so liegt das daran, daß im zweiten Falle die Transpiration der Sproßoberfläche die Lösung an die Zellen heransaugt und sie an der Zelloberfläche konzentriert. Schon Küster hat hervorgehoben, daß die Zellen in den Sprossen sich im mit Feuchtigkeit gesättigten Raum langsamer färben, und daß an Stellen, wo etwa durch Verletzung der Oberfläche die Transpiration gesteigert ist, die Färbung rascher zustande kommt. Aber Küster hat sich wohl gehütet, der Transpiration allzuviel Wert beizumessen. An und für sich ist es ja beinahe selbstverständlich, daß die Transpiration die Farbaufnahme begünstigt; denn wäre bei den Sprossen der Weg von der Schnittfläche bis zu den zu färbenden Zellen allein durch Diffusion, ohne die Beihilfe der Konvektion durch die Transpiration zurückzulegen, so würde Färbung überhaupt nicht eintreten; man wird auch nicht eine Färbung der Nierenepithelien bei einem Frosch erwarten, wenn man sein Herz zum Stillstand bringt und dann ein Bein in eine Farblösung eintaucht. Die Transpiration befördert nur die Farben bis an die Zelloberfläche, und dann kann die Zelle die Farbe aufnehmen — vorausgesetzt, daß sie dazu die Fähigkeiten besitzt. Küster gibt einen sehr lehrreichen Versuch an, bei dem die Transpiration ausgeschlossen war: „Turgescente, etwa 2 cm lange Stücke von den Internodien der Kapuzinerkresse wurden mehrere Tage in 2 $^{0}/_{00}$ige Säurefuchsinlösung gelegt; nach 3 Tagen waren die neben den Leitbündeln liegenden Parenchymzellen sehr kräftig vital gefärbt“. Küster sagt nichts davon, daß alle Zellen

gefärbt waren. Ungleich lebhaftere Konvektionsströme, als in den höheren Pflanzen, gibt es im höheren Tier, und es wird gewiß niemand bestreiten, daß durch das Darmepithel ins Körperinnere und dann vom Körperinnern durch das Epithel der Speicheldrüsen und der Nieren ein kräftiger Flüssigkeitsstrom hindurchgeht, und trotzdem macht man die so merkwürdige Beobachtung, daß das Darmepithel aus der in den Darm gebrachten tief dunkel gefärbten Lösung eines Säurefarbstoffes nichts aufnimmt, das Epithel der Speicheldrüsen sich allenfalls anfärbt, wenn es sich um Indigkarmin handelt, und in den Nieren gewisse Epithelien sich mit dem Farbstoff beladen und andere freibleiben. Die Transpirationshypothese läßt da völlig im Stich, und der zitierte Küstersche Versuch lehrt, daß es bei Pflanzen wohl ganz ähnlich sein wird. Ruhland meint, man müsse bei den nicht transpirierenden Teilen nur lange genug warten, dann würden sie sich auch schon färben, wir bezweifeln es. Die Transpiration kann nicht mehr als durch Ansaugung der Farblösungen und Konzentrierung derselben „den Anprall der Farbstoffmoleküle gegen die Plasmahaut vermehren", wie Ruhland das ausdrückt.

Nun kommt aber nach Ruhland die Transpiration auch nicht als alleiniger Faktor in Betracht, um eine Erklärung dafür zu geben, daß Algen und Schnitte von Pflanzenteilen sich mit den dispersen Säurefarbstoffen von außen her nicht färben, während Zellen der Sprosse von den Gefäßbündeln aus sich färben, und es ist für Ruhland auch direkt notwendig, noch nach einem zweiten Faktor zu suchen, weil ja doch noch zu fragen bleibt, warum die basischen Farbstoffe ohne die Beihilfe der Transpiration in die Pflanzenzellen eintreten können. Um das zu deuten, macht Ruhland eine Annahme, die ebenfalls schon genannt wurde, nämlich, daß die basischen Farbstoffe im Innern der Pflanzenzellen durch eine rasch verlaufende Ionenreaktion, die Säurefarbstoffe durch eine langsam verlaufende Kolloidreaktion gespeichert werden. Diese Annahme, die übrigens schon von Küster erwogen wurde, ist gewiß nicht von der Hand zu weisen. Bewiesen ist sie indessen auch nicht. Aber selbst wenn gezeigt wäre, daß die gut diffusiblen, gegen Elektrolyte wenig empfindlichen, rasch dialysierenden unter den Säurefarbstoffen in kolloider Form gespeichert werden können,

so bliebe **Ruhland** immer noch den Beweis schuldig, daß die verschiedene Färbbarkeit der Pflanzenzellen mit basischen und mit Säurefarbstoffen nur eine Frage des Tempos ist. Wenn also **Ruhland** zu der Auffassung neigt, daß das Ultrafilter der Plasmahaut für die höher dispersen Farbbasen und Säurefarbstoffe gleich durchlässig sei, und daß eine größere Durchlässigkeit für die Basen nur durch die raschere Speicherung vorgetäuscht wird, so steht diese Auffassung vorläufig in der Luft. Wir sind nach wie vor der Meinung, daß es Differenzen der Permeabilität sind, die den Unterschied ausmachen.

Noch eines wäre in Erwägung zu ziehen, nämlich, ob nicht vielleicht denjenigen Zellen, pflanzlichen sowohl wie tierischen, deren Färbbarkeit mit Säurefarbstoffen bisher nicht nachzuweisen war, bloß die Fähigkeit der Speicherung fehlt, die ja den sich färbenden Zellen, wie das mikroskopische Bild lehrt, unzweifelhaft zukommt. Unserer Meinung nach verhilft auch diese Hypothese nicht zur Erklärung der verschiedenen Färbbarkeit. Unter den basischen Farbstoffen werden ja, wie der eine von uns gefunden hat, zum Beispiel die Rhodamine von vielen tierischen Zellen nicht gespeichert; dennoch ist ihre vitale Färbefähigkeit mit relativ starken, aber trotzdem ungiftigen Lösungen mit Sicherheit zu erweisen, da man alsdann den ganzen Protoplasten gleichmäßig durchgefärbt sieht[1]), und selbst bei basischen Farbstoffen, die in Granula gespeichert werden, kann man bei Anwendung genügend hoher Konzentrationen feststellen, daß dann die Granula nicht, wie sonst, in ein scheinbar gänzlich farbloses Protoplasma eingebettet sind, sondern das Protoplasma erscheint dann in einer Nuance heller als die Granula deutlich verfärbt[2]). Etwas Ähnliches kommt in starken Lösungen ungiftiger Säurefarbstoffe z. B. beim Darmepithel niemals vor.

3. Zusammenfassung.

Wir kommen danach für die Theorie der Vitalfärbung von Ruhland zu folgendem Ergebnis:

a) Es ist nicht hinreichend bewiesen, daß für die Aufnahme der basischen Farbstoffe in die lebende Zelle deren Dispersionsgrad ausschlaggebend ist.

---

[1]) **Höber**, diese Zeitschr. 20, 68.

[2]) **Höber**, Arch. f. d. ges. Physiol. 86, 199, 1901.

b) Es ist nicht bewiesen, daß die relativ hoch dispersen unter den Säurefarbstoffen die Plasmahaut sämtlicher Pflanzen- oder sämtlicher Tierzellen durchdringen können, sondern es ist für die Säurefarbstoffe nur an einem noch größeren Material gezeigt, was bereits bekannt war, daß die Zellen, die überhaupt die Säurefarbstoffe aufnehmen können, in ihrem Importvermögen beschränkt sind, sobald der Dispersionsgrad der Farbstoffe unterhalb einer gewissen Grenze bleibt. Warum zahlreiche pflanzliche und tierische Zellen die höher dispersen Säurefarbstoffe nicht aufnehmen, bleibt nach wie vor unerklärt.

Es handelt sich bei der Permeabilität der Farbstoffe also nicht bloß um einen Filtrationsprozeß, die Plasmahaut hat diesen Stoffen gegenüber nicht bloß die Funktion eines Ultrafilters.

IV. Nochmals die Lipoidtheorie der Vitalfärbung.

Der eine von uns hat oft auseinandergesetzt[1]), daß die Lipoidtheorie von Overton nur verlangt, daß die lipoidlöslichen Stoffe in die Zellen eindringen, daß sie aber nicht verlangt, daß lipoidunlösliche Stoffe unter keinen Umständen eindringen. Prüft man die Lipoidtheorie der Vitalfärbung daraufhin, ob sie diesem Grundsatz genügt, so wird man, wie wir glauben, nicht zu einer glatten Ablehnung der Theorie kommen können. Nimmt man die neuen und ausgedehnten Angaben über Vitalfärbung von Ruhland mit unseren hier gegebenen Ergänzungen zu den früheren Erfahrungen hinzu, so zeigt sich nun, daß unter einer Zahl von über 30 vital färbenden basischen Farbstoffen nur 3 färben, obwohl sie lipoidunlöslich sind, daß unter einer Zahl von über 100 Sulfosäurefarbstoffen nur ein einziger, das Echtrot A, sich befindet, der trotz Lipoidlöslichkeit nicht allgemein vital färbt, und daß endlich in einer besonderen Gruppe von Säurefarbstoffen, den Phthaleinen, einige lipoidlösliche sich befinden, nämlich Rose bengale, Cyanosin, Erythrosin und Gallein, die sich wie Echt-

[1]) Siehe besonders: Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 3. Aufl. 1911, Kapitel 7.

rot A verhalten[1]). Nimmt man hinzu, daß sich die Lipoidtheorie an dem diosmotischen Verhalten der Zellen gegenüber einer sehr großen Zahl ungefärbter Verbindungen bisher gut bewährt hat (siehe S. 422), — und man kann bei einer Diskussion der Lipoidtheorie der Vitalfärbung unserer Ansicht nach unmöglich an diesem großen Tatsachenmaterial, so wie Ruhland es tut, vorbeigehen — dann wird man nicht so leicht zu dem Schluß kommen, den Ruhland zieht, zumal da man sich doch auch immer zu vergegenwärtigen hat, daß zahlreiche der bisher zu physiologischen Zwecken verwendeten technischen Farbstoffe nicht rein sind, sondern oft bedenkliche und gerade für die Permeabilität bedenkliche Beimengungen enthalten.

Ruhland lehnt die Lipoidtheorie aber auch deshalb ab, weil er auf Grund seiner Versuche den Standpunkt vertritt, daß die lipoidunlöslichen Säurefarbstoffe, wenigstens die höher dispersen, gerade so allgemein vital färben, wie die lipoidlöslichen basischen Farbstoffe. Wir haben jedoch gesehen, daß dies für die Pflanzenzellen nicht richtig ist, und vollends nicht für die tierischen Zellen, sondern daß die lipoidunlöslichen Säurefarbstoffe elektiv nur gewisse Zellen oder Zellen unter besonderen Bedingungen färben. Daraus wird man im Zusammenhang mit dem ganzen übrigen experimentellen Material logischer Weise folgern, daß neben der Lösung in den Lipoiden noch ein anderer Mechanismus existieren kann, der den Farben den Eintritt in die Zellen ermöglicht. Und da nun die Säurefarbstoffe im allgemeinen sowohl in der Lipoidlöslichkeit wie in der Unfähigkeit zu raschem Eindringen in die Zellen gerade denjenigen Stoffen am meisten ähnlich sind, auf deren gelegentlichen Import es den Zellen am meisten ankommt, nämlich den Zuckern, den Neutralsalzen, den Aminosäuren u. a., so wird man sich für diesen zweiten Mechanismus ganz besonders zu interessieren haben. Und damit kommen wir auf die zur Unterscheidung dieser zwei Importarten von Höber gewählten Ausdrücke der „physikalischen" und der „physiologischen Permeabilität", an deren begrifflichem Inhalt wir trotz Ruhland festhalten, und die besagen sollen, daß der physika-

[1]) Diese Zusammenstellung lehrt, daß wir keineswegs so, wie Ruhland (l. c. S. 376 und 418) es darstellt, die früher von ihm aus der Prüfung der Lipoidlöslichkeit der Farben hergeleiteten Einwände gegen die Lipoidtheorie anerkannt haben, ebensowenig wie wir es jetzt tun.

lisch definierte Vorgang der Auflösung in den Lipoiden wohl der eine Mechanismus ist, der den lipoidlöslichen Stoffen stets das Eindringen ermöglicht, und daß eben noch ein zweiter Mechanismus vorhanden ist für die Stoffe, die schwer oder nicht permeieren können, nach denen aber sicherlich gelegentlich in der Zelle ein großer Bedarf besteht, die also hinein müssen. Aber wann und wie? Ruhland sagt am Schluß seiner Abhandlung wörtlich: „Daß gerade die physiologisch wichtigsten Stoffe sich unter den regelmäßig schwer oder kaum permeierenden Substanzen befinden, mag für die Zelle u. a. auch den Sinn haben, ihr eine möglichst weitgehende regulatorische Beeinflussung über sie bei Aufnahme und Abgabe zu sichern." Man kann allerdings kaum eine bündigere Zustimmung zu der seit lange von Höber vertretenen und von Ruhland bekämpften Ansicht über den Stoffimport erwarten; die wichtigen Nahrungsstoffe, denen sehr zweckmäßigerweise die physikalische Struktur der Zelle den zeitlich unbeschränkten Eintritt verwehrt, werden durch „regulatorisches Walten" von diesen oder jenen Zellsorten gelegentlich importiert. Ruhland und wir sind nunmehr wohl allein insofern verschiedener Meinung, als wir nach dem Ergebnis der zahlreichen plasmolytischen oder sonstigen diosmotischen Experimente, nach den Ergebnissen der Vitalfärbung und vielem anderen mehr damit rechnen, daß das „regulatorische Walten des Protoplasten" sich in der Plasmahaut vollzieht und in der irgendwie gearteten Eröffnung der bis dahin für gewisse Stoffe verschlossenen Pforten besteht, während Ruhland das regulatorische Walten anscheinend mehr in den Protoplasten hineinverlegt und den Import der an und für sich langsam permeierenden Stoffe indirekt dadurch beschleunigt denkt. Das Voranstehende wird erklären, warum wir unsere Ansicht derjenigen Ruhlands vorziehen.

Unsere Stellungnahme zur Lipoidtheorie hat also durch die neuen Untersuchungen von Ruhland keine Änderung erfahren; wir halten sie für eine der fruchtbarsten Theorien in der gesamten Physiologie, wir räumen jedoch abermals ohne weiteres ein, daß sie gewisse hier nicht wieder zu erörternde Schwächen hat, die vielleicht dazu führen werden, daß sie ad acta zu legen und durch eine umfassendere Anschauung zu ersetzen ist. Aber solch Zugeständnis berechtigt schwerlich zu dem

überlegenen Ton, den Ruhland anschlägt; die Physiologie befindet sich in einem Tempo des Aufschwungs, das uns hoffentlich noch recht oft dazu nötigt, die Meinung über einen Gegenstand zu ändern. Übrigens möchten wir gerade an dieser Stelle noch einmal hervorheben, daß nach wie vor kein einziger basischer, also positiv-elektrischer Farbstoff bekannt ist, der nicht vital färbte, während die Säurefarbstoffe, die elektronegativen, fast ausnahmslos zu den nicht allgemein vital färbenden gehören. Wir bleiben auch darüber anderer Meinung als Ruhland und rechnen weiter mit der Möglichkeit, daß für dies Verhältnis die elektrischen Eigenschaften des Protoplasten als maßgebend erkannt werden.

Asphyxie und Blutzucker.

Von

Ivar Bang und Thor Stenström.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 30. März 1913.)

Mit 1 Figur im Text.

Die vielen verschiedenen Gifte, die eine Glucosurie bewirken können, lassen sich in zwei Gruppen einteilen, wovon die eine Gruppe solche Gifte umfaßt, die die Nieren direkt zur Zuckerausscheidung anregen, ohne daß hierbei die Blutzuckerkonzentration erhöht wird. Außer Phlorizin findet man hier die spezifischen Nierengifte, Cantharidin, Chromate, Uransalze usw.

Zur zweiten Gruppe werden solche Gifte gerechnet, die in erster Linie eine Hyperglykämie hervorrufen sollen; diese Hyperglykämie soll entweder durch Erregung der sympathischen Endapparate direkt oder indirekt über die Nebenniere infolge einer vermehrten Adrenalinsekretion zustande kommen, was Pollak[1]) und Starkenstein[2]) bewiesen zu haben glauben.

Das Gemeinsame bei allen diesen Vergiftungen ist jedenfalls das Auftreten einer Asphyxie. Abgesehen von einer mechanisch behinderten Luftzufuhr (z. B. bei ungeschickter Inhalationsnarkose) wirken einige Gifte auf die Lungenatmung schädigend ein, entweder durch Paralyse der Respirationsmuskulatur oder -Nerven oder durch Tetanus derselben Muskulatur. Andere Gifte bedingen eine „innere Erstickung", eine Behinderung des Sauerstofftransportes im Blute, z. B. durch Bildung von CO-, HCN-, H_2S- oder Methämoglobin.

Betrachtet man aber die Ergebnisse der Experimentalforschung über diese asphyktische Glucosurie genauer, so findet man Verhältnisse, die nicht gut von einem gemeinsamen Gesichtspunkt erklärt werden können. Auch treten sonst manche Widersprüche zutage.

---

[1]) Pollak, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm. 61, 157, 1909.

[2]) Starkenstein, Arch. f. experim. Pathol. u. Therap. 10, 1, 1911

Sämtliche Forscher stimmen darin überein, daß die Glucosurie von der Gegenwart des Leberglykogens abhängig ist. Doch soll nach Straub[1]) bei der CO-Glucosurie eine Kohlenhydratzufuhr dieselbe verhindern, Eiweißzufuhr aber fördern, was Rosenstein[2]) bestreitet. Jedenfalls tritt immer nach CO-Vergiftung ein bedeutender Eiweißzerfall ein.

Sämtliche Forscher haben weiter gefunden, daß die Glucosurie eine transitorische ist und durch Zufuhr von Luft oder Sauerstoff verhindert bzw. aufgehoben wird. Andererseits soll nicht der Mangel an Sauerstoff, sondern der vermehrte Gehalt des Blutes an Kohlensäure die Ursache der Glucosurie sein. Besonders Edie[3]) hat hierfür sehr überzeugende Versuche beigebracht. Nun hat man jedoch z. B. bei der CO-Vergiftung und den anderen inneren Erstickungen keinen vermehrten Kohlensäuregehalt des Blutes anzunehmen, da die Lungenventilation nicht herabgesetzt ist. Saiki und Wakayama[4]) fanden auch bei Kohlenoxydvergiftung ein starkes Sinken des Kohlensäuregehaltes im Blute. Hier kann folglich nur der Sauerstoffmangel in Betracht kommen. Und eben bei dieser Vergiftung hat Starkenstein (l. c.) die Mitwirkung der Nebennieren — Erschöpfung des Adrenalins — bewiesen.

Unter diesen Umständen vermißt man die Blutzuckerbestimmungen sehr. Solche sind nur von Cl. Bernard u. a. bei der Curarevergiftung, von Reach bei der Strychninvergiftung, von Dastre u. a. bei der Erstickung durch Luftmangel publiziert worden (Näheres hierüber siehe Bang, Der Blutzucker, Wiesbaden 1913, S. 105 bis 108).

Wir haben uns deswegen die Aufgabe gestellt, mittels der Mikromethode von Bang teils die fehlenden Blutzuckerbestimmungen bei den anderen mit Asphyxie verbundenen Vergiftungen nachzuholen, teils die zeitlichen Verhältnisse des Blutzuckers bei diesen Vergiftungen näher zu untersuchen.

Hierbei hat sich aber die überraschende Tatsache herausgestellt, daß die Verhältnisse ganz anders liegen, als die früheren Forscher es gefunden haben. Eine sogar tödliche Vergiftung durch Asphyxie braucht keineswegs eine noch

[1]) Straub, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm. 38, 139, 1897.
[2]) Rosenstein, Ebenda 50, 363, 1898.
[3]) Edie, Biochem. Journ. 1, 455, 1906.
[4]) Saiki und Wakayama, Zeitschr. f. physiol. Chem. 34, 96, 1901/02.

so geringe Steigerung des Blutzuckergehaltes zu bewirken. Und wenn Steigerungen vorkommen, was nur unter bestimmten Bedingungen (die nichts mit dem Kohlensäuregehalte des Blutes zu tun haben) geschieht, sind sie immer ungenügend, um die gelegentlich vorkommende Glucosurie zu erklären. Wir bemerken gleich, daß die Versuche nur an wohlernährten Kaninchen ausgeführt sind. Wie sich die Verhältnisse bei Hunden gestalten, steht noch offen. Man hat Grund zu vermuten, daß Hunde intensiver reagieren.

Folgende Vergiftungsversuche wurden angestellt: Curare-, Kobragift-, Kohlenoxyd-, Kohlensäure-, Strychnin-, sowie mechanische Erstickung.

1. Curarevergiftung.

Verwendet wurde ein altes Präparat von Kalebascurare, das als wässerige Lösung immer subcutan eingespritzt wurde. Die folgende Tabelle liefert eine Übersicht über die Ergebnisse.

Tabelle I.

Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7
Gewicht des Kaninchens	2150 g	2300 g	2600 g	—	2700 g	2200 g	1500 g
Injizierte Quantität	1 mg	4 mg	4,5 mg	5 mg	6 mg	10 mg	10 mg
Präf. Blutzuckergehalt	0,08 %	0,05 %	0,105 %	0,095 %	0,11 %	0,09 %	0,10 %
15 Min. nach der Injektion	—	—	0,103 %	0,11 %	—	0,09	0,11
18 „	—	—	—	—	—	—	0,10
20 „	—	—	—	—	—	0,10	—
21 „	—	—	—	—	—	—	0,11
22 „	—	—	—	—	—	0,10	—
23 „	—	—	—	—	—	—	0,16
24 „	—	—	—	—	—	—	0,13 †
25 „	—	—	—	—	—	0,13	—
28 „	—	—	—	—	—	0,15 †	—
30 „	0,10	0,03	0,106	0,11	0,11	—	—
45 „	—	—	0,102	0,10	—	—	—
1 Std.	0,10	0,04	0,109	0,13	0,11	—	—
1½ „	—	—	0,105	0,09	0,10	—	—
2 „	0,11	0,04	0,104	0,10	0,12	—	—
2½ „	—	—	0,098	0,08	—	—	—
3 „	0,09	0,07	0,086	—	0,10	—	—
3½ „	—	—	—	0,10	—	—	—
4 „	0,09	—	0,104	—	0,12	—	—
5 „	—	—	0,093	—	0,10	—	—
6 „	—	—	0,112	—	0,13	—	—
7 „	—	—	0,123	—	0,11	—	—

In keinem Versuch wurde Glucosurie beobachtet.

In den Versuchen Nr. 1, 2, 3 und 5 traten keine Vergiftungssymptome auf. Wie ersichtlich, ist auch der Blutzuckerspiegel unverändert geblieben. (In Versuch Nr. 3 hatte das Tier 10 g Glucose etwa 20 Stunden vorher per os bekommen.)

In den Versuchen Nr. 6 und 7, wo der Tod schon nach etwa $^1/_2$ Stunde wegen Respirationsstillstand eintrat, findet man kurz vor dem Tode eine allerdings recht unbedeutende Steigerung des Blutzuckergehaltes. Diese Beobachtungen lassen sich sehr wohl mit der gewöhnlichen Auffassung vereinigen, daß die Asphyxie als solche die Hyperglykämie veranlaßt. Wenn diese Hyperglykämie nur gering ist, kann man sich vorstellen, daß die Tiere sehr schnell eingegangen sind; es hat also die notwendige Zeit zur Ausbildung der typischen Hyperglykämie gefehlt.

Gegen eine solche Folgerung sprechen aber die Ergebnisse des Versuchs Nr. 4 ganz entschieden. In diesem Versuch trat nämlich eine vollständige Paralyse der Extremitätenmuskeln und der Halsmuskeln und eine deutliche Paralyse der Respirationsmuskeln ein. Auch hier sollte man den Tod als Ergebnis erwarten. Unerwartet ging aber die Paralyse sogar recht schnell zurück, wie das Protokoll dartut.

Um 10 Uhr 35 Min. vormittags wurden 5 mg Curare injiziert, um 11 Uhr 10 Min. vormittags ist die Parese der Extremitäten schon deutlich eingetreten. Das entnommene Blut ist dunkel, stark venös. Nach einigen Minuten ist das Tier völlig paralysiert. Die Respiration sehr oberflächlich. Um 11 Uhr 35 Min. vormittags fängt die Paralyse an zurückzugehen. Das Tierchen kann einen Moment den Kopf von der Unterlage heben. Um 11 Uhr 45 Min. vormittags Zustand etwas besser. Um 12 Uhr mittags bewegt sich das Tierchen mit etwas Schwierigkeit, hält aber den Kopf hoch. Um 12 Uhr 30 Min. nachmittags ist das Kaninchen wieder völlig hergestellt.

Bei Durchsicht der Tabelle findet man, daß in der Zeit der Paralyse (1 Stunde nach der Injektion) tatsächlich eine geringe Steigerung des Blutzuckers vorkommt (von 0,10 $^0/_0$ auf 0,13 $^0/_0$), die schon nach 10 Minuten (von 11 Uhr 27 Min. bis 11 Uhr 35 Min.) wieder verschwunden ist (0,11 $^0/_0$). Ganz ohne Einfluß ist also hier die Asphyxie nicht gewesen. Doch ist diese Steigerung höchst unbedeutend, wenn man dieselbe (ebenso wie die Befunde der Versuche 6 und 7) mit den

von früheren Forschern gefundenen vergleicht. Cl. Bernard[1]) fand zwar an Hunden nur Steigerungen von 0,15% bis zu 0,28%, 0,17% bis 0,24% und 0,16% bis 0,26%. Araki aber am Hund 0,6% bis 0,7% Blutzucker und Machod schon nach 30 Minuten auch beim Hund 0,30% oder mehr. Beim Hund ist also wahrscheinlich (?) die Curarewirkung weit intensiver.

Die Befunde beim Kaninchen sprechen nicht zugunsten der Hypothese von Starkenstein (l. c.), daß das Adrenalin durch die Asphyxie mobilisiert wird. Eine Adrenalininjektion oder die Piqûre bedingt eine wesentlich höhere Steigerung des Blutzuckers. Wenn nach Borberg u. a. die Asphyxie einen beinahe vollständigen Schwund der chromophilen Substanz der Nebennieren bedingt, dürfte man demzufolge einen weit höheren Blutzuckergehalt erwarten können.

2. Kobravergiftung.

Die betreffenden Versuche bestätigen vollinhaltlich die Befunde bei Curarevergiftung. Bekanntlich tritt nach der Einverleibung von Kobragift ebenfalls eine Muskelparalyse ein, die schließlich wegen Respirationsstillstand zum Tode führt.

Tabelle II.

Versuch Nr.		1	2	3	4	5	6
Präf. Blutzuckergehalt		0,11%	0,07%	0,09%	0,13%	0,12%	0,10%
15 Min.	nach der Injektion	0,10	—	—	—	—	—
30 „		—	—	—	—	0,14 †	0,11
35 „		—	—	—	—	—	0,12 †
45 „		0,10	—	—	—	—	—
1 Std. — „		—	0,07	0,09	—	—	—
1 „ 15 „		0,11	—	—	—	—	—
1 „ 30 „		0,10	—	0,10	—	—	—
1 „ 40 „		—	—	—	0,12	—	—
1 „ 45 „		0,09	—	—	—	—	—
1 „ 55 „		—	—	—	0,14	—	—
2 „ — „		0,09	0,08	0,10	—	—	—
2 „ 10 „		—	—	—	0,13 †	—	—
2 „ 15 „		0,09	—	—	—	—	—
2 „ 30 „		—	—	0,08 †	—	—	—
2 „ 45 „		0,09 †	0,07	—	—	—	—
2 „ 55 „		—	0,07	—	—	—	—
2 „ 58 „		—	0,08 †	—	—	—	—

In den Versuchen 1 bis 4 1 mg Kobragift subcutan injiziert, in den Versuchen 5 bis 6 0,5 mg intravenös eingespritzt.

[1]) Betreffs der Literatur siehe Bang, Der Blutzucker.

In sämtlichen Versuchen, wo die Tiere doch asphyktisch starben, findet man absolut keine Steigerung des Blutzuckergehaltes. Nun wäre es aber denkbar, daß das Kobragift, das eine zentrale Wirkung besitzt, eine Hemmungswirkung gegen die Zuckerproduktion ausüben könnte. Daß diese Möglichkeit aber unzutreffend ist, lehrt der folgende Versuch, in dem 1 mg Kobragift und 1 mg Adrenalin beide subcutan eingespritzt wurden (das Adrenalin 45 Minuten nach der Kobragiftinjektion).

Präformierter Blutzuckergehalt = 0,115 $^0/_0$. 45 Min. nach der Kobragiftinjektion 1 mg Adrenalin injiziert; Blutzucker = 0,11 $^0/_0$. Nach $1^1/_2$ Std. 0,245 $^0/_0$, nach 2 Std. 0,31 $^0/_0$, nach $2^1/_2$ Std. 0,33 $^0/_0$, nach 3 Std. 0,335 $^0/_0$, nach $3^1/_2$ Std. 0,325 $^0/_0$, nach 4 Std. 0,27 $^0/_0$, nach $5^1/_2$ Std. 0,26 $^0/_0$, nach $6^1/_2$ Std. 0,24 $^0/_0$ und nach $7^1/_2$ Std. 0,17 $^0/_0$ — eine typische Adrenalinkurve. Das Tier wurde nur paretisch, überlebt aber merkwürdigerweise, wahrscheinlich aus dem Grunde, daß das Gift wegen der starken Polyurie schnell ausgeschieden wurde.

Die Kobraversuche haben also das unzweideutige Ergebnis geliefert, daß eine sogar tödliche Asphyxie ohne die geringste Steigerung des Blutzuckergehaltes vorkommen kann.

3. Strychninversuche.

Die Versuchstiere bekamen Strychninnitrat in Ringer-Lösung subcutan. Es sind nur zwei Versuche angestellt worden.

Tabelle III.

Versuch Nr.	1	2
Gewicht d. Kaninchens	2800 g	3000 g
Strychnin	0,5 mg	1,0 mg
Präf. Blutzuckergehalt	0,10 $^0/_0$	0,09 $^0/_0$
10 Min. nach der Injektion	0,14	—
15 „	0,14	0,12
22 „	0,16	—
32 „	0,18	—
45 „	—	0,17
1 Std. — „	0,21	0,12 (?)
1 „ 15 „	—	0,19
1 „ 30 „	—	0,12
2 „ — „	0,11	0,12

Tabelle III (Fortsetzung).

Versuch Nr.	1	2
Gewicht d. Kaninchens	2800 g	3000 g
Strychnin	0,5 mg	0,1 mg
Präf. Blutzuckergehalt	0,10 %	0,09 %
2 h 12 m nach der Injektion	1 mg Strychnin	—
2 „ 20 „	0,13	—
2 „ 30 „	0,13	0,11
2 „ 33 „	0,17	—
2 „ 40 „	0,16	—
3 „ — „	0,18	—
3 „ 30 „	0,18	0,12
4 „ 20 „	0,16	—

In dem ersten Versuche war der Harn zuckerfrei, in dem zweiten, wo das Tier 16 Stunden vorher 10 g Zucker per os bekam, enthielt der Harn 0,26 % Zucker.

In dem ersten Versuche waren 30 Minuten nach der ersten Einspritzung schwache Contractionen in den Hinterbeinen bemerkbar, die jedoch nach wenigen Minuten vorübergingen. (Das Kaninchen war etwas steif bei der Bewegung.) 14 Minuten nach der zweiten Injektion stellten sich heftige Krämpfe ein, die nach einer Viertelstunde abgeklungen waren. Doch war das Tier in der folgenden Zeit steif und bewegte sich träge. In dem zweiten Versuche zeigten sich nach 15 Minuten verstärkte Reflexe, die tetanische Konvulsionen auslösten. Erst nach 3 Stunden war der Zustand wieder beinahe normal geworden. In der Zwischenzeit lag das Tierchen unbeweglich auf dem Boden. Da schon eine Berührung oder ein Klatschen der Hände den Tetanus auslöste, wurde, soweit möglich, jede solche Einwirkung verhindert.

Aus der Tabelle geht hervor, daß das Strychnin in einer Dosis, die keineswegs eine Asphyxie bewirken kann, dessenungeachtet eine deutliche, obwohl geringe Hyperglykämie hervorruft. Weiter tritt keine größere Hyperglykämie ein, wenn die Konvulsionen zustande kommen; eher das Entgegengesetzte. Man kann deswegen folgern, daß das Strychnin die Hyperglykämie direkt unabhängig von der Asphyxie (die nur in der letzten Zeit des ersten und wohl kaum in dem zweiten Versuche vorkam) bewirken muß.

4. Kohlensäureversuche.

Bei diesen Versuchen wurde das Versuchstier in einen kleinen Glaskasten eingeführt, der mit einer Korkplatte bedeckt war. Die Kohlensäure wurde von einem Kippapparat durch einen Gummischlauch zugeführt. Im folgenden sollen zuerst die Blutzuckerkurven mitgeteilt werden; dann folgt die Beschreibung der einzelnen Versuche.

Tabelle IV.

Versuch Nr.		1	2	3	4
Gewicht des Kaninchens		—	2150 g	2100 g	2300 g
Präf. Blutzuckergehalt		0,09 %	0,08 %	0,08 %	0,11 %
5 Min.	nach der Injektion	— } ← CO_2	0,10 ← CO_2	0,09 ← CO_2	— } ← CO_2
15 „		0,12 }	0,12	0,13	0,13 }
30 „		—	0,10 ← CO_2	0,13	— }
45 „		0,13 } ← CO_2	0,09 ← CO_2	0,13	0,19 }
1 Std. — „		— }	0,10 ← CO_2	0,13 ← CO_2	0,21 } ← CO_2
1 „ 15 „		0,12	0,11	0,13	0,19 }
1 „ 30 „		0,10 ← CO_2	0,14 ← CO_2	0,09	0,18 } †
1 „ 45 „		—	0,10 ← CO_2	0,10	—
2 „ — „		0,15	0,10	0,09	—
2 „ 15 „		0,17	—	—	—
2 „ 30 „		0,17	—	—	—
3 „ — „		0,14	—	0,09	—
3 „ 30 „		0,12 ← CO_2	0,10	—	—
4 „ — „		—	—	0,11	—
4 „ 30 „		0,12	—	—	—
5 „ — „		—	—	0,12	—
5 „ 20 „		—	—	0,14 ← CO_2	—
5 „ 30 „		—	—	0,17 ← CO_2	—
6 „ — „		0,11	—	0,14	—
6 „ 30 „		0,11	—	0,10	—
7 „ 30 „		—	—	0,09	—
8 „ 30 „		—	—	0,09	—

In dem ersten Versuche keine Glucosurie, in dem zweiten 0,52 % Harnzucker, in dem dritten keine Glucosurie, in dem vierten 0,25 %.

In dem ersten Versuche wurde viermal CO_2 zugeführt. Das erste und zweite Mal während 15 Minuten in mäßiger Menge. Das Tier wurde nicht sichtbar angegriffen. Später wurde die CO_2-Zufuhr derartig forciert, daß das Tier nach kurzer Zeit 5 bis 10 Minuten bewußtlos wurde, dann wurde das Tier schnell herausgenommen. Nach wenigen Minuten er-

holte es sich wieder vollständig. Genau in derselben Weise wurden die folgenden Tiere vergiftet. Die Pfeile zeigen, wie oft die CO_2 zugeleitet wurde. In dem letzten Versuche wurde jedoch das Tierchen unmittelbar nach der Erholung wieder eingesetzt und aufs neue mit CO_2 vergiftet, mit dem Erfolge, daß dasselbe einging.

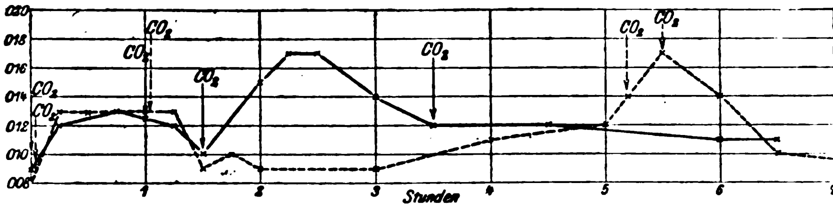


Fig. 1.

Aus der Tabelle und noch besser aus der Kurventafel I (wo der Übersicht halber nur die Versuche 1 und 3 wiedergegeben sind) geht hervor, daß die CO_2-Vergiftung gewiß eine Steigerung des Blutzuckergehaltes bewirken kann. Doch ist diese Erscheinung keineswegs konstant. So findet man sowohl in dem Versuche Nr. 1, wie in Nr. 2 und Nr. 3, mehrmals nach der CO_2-Zufuhr absolut keine Steigerung des Blutzuckers, trotzdem die Tiere hier wie sonst bis zur Bewußtlosigkeit vergiftet wurden. Andererseits, wenn die Vergiftung eine Steigerung des Blutzuckers zur Folge hat, tritt diese Steigerung sehr rasch ein, sie ist aber von kurzer Dauer. Immer ist aber die absolute Höhe des Blutzuckers recht unbedeutend und kann absolut nicht die Glucosurie, die übrigens nicht konstant ist, erklären. Übrigens ist bemerkenswert, daß die größte Zuckerausscheidung in Versuch Nr. 2 eintritt, während doch die Hyperglykämie in Versuch Nr. 3 ohne Glucosurie höher ist. Die Diskussion dieser Ergebnisse mag vorläufig ausstehen, bis die übrigen Vergiftungsversuche besprochen worden sind.

5. Kohlenoxydvergiftung.

Die Kohlenoxydversuche wurden in derselben Weise wie die Kohlensäureversuche angestellt. Das Kohlenoxyd wurde aus der Leuchtgasleitung zugeführt. Das Versuchsergebnis ist aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle V.

Versuch Nr.	1	2	3	4
Präform. Blutzuckergehalt	0,095 %	0,11 %	0,11 %	0,10 %
	← CO	← CO	← CO	← CO
10 Min. (nach der ersten Gaszufuhr)	0,12 %	0,15 %	0,19 %	—
15 „	0,15	—	0,19	0,12 %
30 „	—	0,15	0,21 ← CO	0,11 ← CO
45 „	—	—	0,17	0,12
1 Std. — „	0,14	0,18 ← CO	0,18 ← CO	0,09
1 „ 15 „	—	0,16	0,20	0,11 }
1 „ 30 „	0,12	0,17	0,18 ← CO	0,10 } ← CO
1 „ 36 „	—	—	—	0,10† }
1 „ 40 „	—	0,21 ← CO	0,19	—
2 „ — „	0,11	—	0,19	—
2 „ 30 „	0,10	0,16	0,14	—
3 „ — „	—	0,14	0,13	—
3 „ 10 „	0,07	0,13	—	—
3 „ 20 „	0,06 ← CO	—	—	—
3 „ 30 „	0,13	0,08	0,12	—
4 „ — „	0,11	—	—	—
4 „ 30 „	0,12	—	0,10	—
4 „ 45 „	0,11 ← CO	—	—	—
5 „ — „	0,09	—	—	—
6 „ — „	0,11	—	—	—

Harn überall ohne besondere Eigenschaften.

In den drei ersten Versuchen wurde das Gas forciert zugeführt. Nach wenigen (3 bis 5) Minuten bekamen die Tiere so gut wie immer mehr oder weniger starke Konvulsionen, die nach kurzer Dauer von einer Bewußtlosigkeit abgelöst wurden. Es war dann notwendig, um die Tiere zu retten, künstliche Respiration anzustellen. Nach ein paar Minuten waren dann die Tiere imstande, sich aufrecht zu halten. Doch waren sie noch einige Minuten recht benommen.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die CO-Zufuhr hier immer von einer Steigerung des Blutzuckers begleitet war. Da nun aber der Einwand möglich war, daß hier keine vollständige CO-Vergiftung vorlag (und der Umstand, daß die Tiere sich verhältnismäßig rasch erholten, spricht dafür), konnte vermutet werden, daß die Luft von dem Gas verdrängt worden war. Der Luftmangel, und nicht die CO-Vergiftung, war in diesem Falle das Wesentliche. In dem letzten Versuche (Nr. 4) wurde deswegen ein langsamer Gasstrom zugeführt. Wie ersichtlich, ist hier auch die Blutzuckersteigerung ausgeblieben.

Um den Einwand zu widerlegen, daß hier die Vergiftung eine unvollständige gewesen ist, führen wir das Versuchsprotokoll an:

Um $10^h 15'$ a. m. wurde mit der CO-Zuleitung angefangen. Um $10^h 20'$ war das Tierchen stark benommen, liegt auf der Seite. Es wurde sofort herausgenommen. Um $10^h 33'$ kann sich das Kaninchen mit Mühe aufrecht halten, bewegt sich aber schon nach 1 Minute recht gut.

Um $10^h 40'$ aufs neue CO zugeführt. Um $10^h 45'$ Tier schon etwas benommen. Um $10^h 53'$ einen Augenblick recht starke Konvulsionen, fällt nachher zusammen. Agonale, aussetzende Respiration, völlig bewußlos. Cornealreflex erloschen. Nach künstlicher Respiration während 5 Minuten steigt der früher schlechte Blutdruck, Tier aber fortwährend bewußtlos. Um $11^h 5'$ sitzt das Kaninchen schon aufrecht und bewegt sich nach ein paar Minuten, obwohl mit Mühe, umher. Um $11^h 15'$ wieder CO zugeführt. Nach 9 Minuten vollständige Paralyse, bewußtlos. Nach 1 Minute wieder CO. Das Kaninchen stirbt um $11^h 31'$. Blut aus der Carotis für die letzte Probe. Das Blut ist hellrot, wahrscheinlich sehr kohlenoxydhaltig.

Hier liegt also eine zum Tode führende CO-Vergiftung vor, die von keiner Steigerung des Blutzuckers begleitet ist. Beim Vergleich mit den übrigen CO-Versuchen gewinnt die Auffassung in der Tat an Wahrscheinlichkeit, daß die dortige Steigerung des Blutzuckers aus dem Luftmangel bedingt ist. Es blieb nun noch übrig, dieser Möglichkeit näherzutreten. Die einschlägigen Versuche sind in der Weise ausgeführt worden, daß die Luft teils durch ein indifferentes Gas (Wasserstoff) ersetzt, teils mechanisch ferngehalten wurde, indem die Schnauze des Tieres mit Watte und einem Gummituch luftdicht komprimiert wurde.

6. Luftmangel.

In dem ersten Versuch (Tabelle VI) bekam das Tier nach der ersten H-Zufuhr (während 7 Minuten) Konvulsionen, war sehr benommen, erholte sich aber recht schnell. Bei der zweiten H-Zufuhr (während 13 Minuten) wurde das Tier nicht benommen, zeigte aber recht starke Dyspnoe.

In dem zweiten Versuch (Tabelle VI) wurde dem Tier so lange Luft entzogen, bis nach der Erregung Bewußtlosigkeit eintrat. Das Blut war besonders nach der zweiten Kompression ganz

Tabelle VI.

Versuch Nr.	1 (H-Versuch)	2 (mechanischer Luftmangel)
Präform. Blutzuckergehalt	0,105 %	0,115 %
	← H-Gas	← Kompression
1 Min. (nach der ersten Einwirkung)	0,12 %	0,13 %
6 „	—	0,15
15 „	0,20	0,16
30 „	0,14	0,15
		← Kompression
35 „	—	0,13
45 „	0,14 ← H-Gas	0,13
1 Std. — „	0,15	0,15
1 „ 30 „	0,13	0,11
2 „ — „	0,12	0,12
2 „ 30 „	0,12	0,12

asphyktisch. Wie ersichtlich, tritt in beiden Fällen eine Hyperglykämie von derselben Größenordnung wie bei den früheren Vergiftungen ein. Auch stimmen die zeitlichen Verhältnisse gut überein.

Die oben angeführten Vergiftungsversuche sind anscheinend recht widersprechend, indem die Vergiftungen bald Hyperglykämie hervorrufen, bald wirkungslos sind. Eine nähere Analyse derselben gibt aber sofort die Erklärung.

Zuerst kann man konstatieren, daß eine tödliche Asphyxie, wie besonders die Kobragiftversuche, ohne Hyperglykämie verlaufen kann. Umgekehrt tritt bei den Vergiftungen mit Kohlenoxyd und Wasserstoff Hyperglykämie ein, trotzdem hier doch keine Steigerung des Kohlensäuregehaltes im Blut und Gewebe vorkommt. Eine Kohlensäureretention braucht also keine Hyperglykämie zu bewirken, und umgekehrt kann die Hyperglykämie bei Asphyxie ohne Kohlensäureretention auftreten. Folglich kann unmöglich die Kohlensäure das Wesentliche bei der Asphyxiehyperglykämie sein. Dagegen ist es gut möglich, daß die Kohlensäure für die Glucosurie verantwortlich ist. Da diese Glucosurie bei einer so geringen Hyperglykämie eintritt, die sonst bei Kaninchen keine Zuckerausscheidung durch den Harn bedingt, ist die Folgerung berechtigt, daß in diesem Falle die Kohlensäure eine direkte Wirkung auf die Nieren, analog der Phlorizinwirkung, ausübt. Da aber die Zuckerausscheidung nach CO_2-Vergiftung keine konstante war, lassen

wir diese Frage vorläufig offen, um so mehr, als das Thema unserer Untersuchung der Blutzucker und nicht der Harnzucker ist.

Aus den obigen Versuchen ist weiter ersichtlich, daß die Hyperglykämie bei den verschiedenen Vergiftungen mit Curare, Kohlenoxyd und Kohlensäure zwar inkonstant ist, aber doch *immer* eintritt, wenn eine *akute forcierte Vergiftung* vorliegt. Bei einer langsam fortschreitenden Vergiftung vermißt man die Hyperglykämie, selbst wenn dieselbe zum Tode führt. Besonders überzeugend sind hierfür die Kohlenoxydversuche und die Curareversuche. Hieraus läßt sich folgern, daß die vermehrte Zuckerproduktion von einer *Erregung* des Nervensystems (oder der Nebennieren) durch die *plötzlich* eintretende Asphyxie bedingt ist, während eine langsame Asphyxie eher eine *Lähmung* der Zuckerproduktion oder jedenfalls keine Erregung bedingt. Die Erregung zur Zuckerbildung ist demgemäß mit der konvulsiven Erregung vergleichbar. Bei der Kobragiftvergiftung, die langsam und regelmäßig fortschreitet, tritt der Tod ohne irgendwelche konvulsive Erregung ein. Ebenso *kann* die Curarevergiftung verlaufen (vgl. den obigen Versuch Nr. 4). Bei einer schnell verlaufenden Curarevergiftung treten aber prämortale Konvulsionen ein, und hier findet man ebenfalls eine Steigerung des Blutzuckergehaltes. Ebenso verhält sich die Kohlenoxydvergiftung. Indessen ist die Blutzuckersteigerung keineswegs eine *Folge* der Konvulsionen, sondern eine Parallelerscheinung. Tatsächlich findet man oft jedenfalls kleinere, schnell vorübergehende Krämpfe ohne Steigerung des Blutzuckers, wie u. a. in dem obigen letzten CO-Versuch. Und bei den beiden Strychninversuchen sind sogar die Konvulsionen — die hier nicht asphyktisch sind — von keiner Steigerung des Blutzuckers begleitet. Konvulsionen dürften demgemäß leichter ausgelöst werden können als die asphyktische Zuckerbildung. Eine Möglichkeit bleibt zu berücksichtigen: die Zuckerbildung kann aus der *psychischen Erregung* — z. B. Todesangst —, also indirekt bedingt sein. Die Entscheidung, inwieweit eine direkte asphyktische Erregung zur Zuckerbildung oder eine indirekt durch psychische Erregung bedingte vorliegt, ist sehr schwer. Wir möchten vorläufig diese Entscheidung ausstehen lassen.

Schlußfolgerungen.

1. Eine asphyktische Hyperglykämie kann vorkommen. Sie ist jedoch immer recht gering und nicht mit der Adrenalinhyperglykämie, z. B. durch Piqûre, vergleichbar. Es ist ausgeschlossen, daß die Zuckerbildung nach Piqûre, wie einige Verfasser glauben, durch die begleitende Asphyxie bedingt sein kann.

2. Diese asphyktische Hyperglykämie ist nicht durch eine Kohlensäurevergiftung hervorgerufen, da eine Kohlensäurevergiftung ohne Hyperglykämie und eine Hyperglykämie ohne Kohlensäurevergiftung verlaufen kann.

3. Nur eine akut eintretende Asphyxie ist von Hyperglykämie begleitet. Eine langsam fortschreitende zeigt keine Hyperglykämie, selbst wenn sie zum Tode führt. Die Zuckerbildung ist durch die asphyktische Erregung bedingt und ist als eine Parallelerscheinung der asphyktischen Konvulsionen zu betrachten. Konvulsionen allein bedingen keine (oder jedenfalls keine bemerkenswerte) Hyperglykämie. Man kann deswegen annehmen, daß Muskelarbeit keine Hyperglykämie veranlaßt, eine Voraussetzung, die nach unveröffentlichten Untersuchungen mittels der Mikromethode auch zutrifft.

4. Strychnin bedingt an sich unabhängig von der konvulsiven Wirkung eine Hyperglykämie.

5. Die obigen Ergebnisse zeigen, daß die Hyperglykämie bei Menschen in mit Asphyxie verbundenen Krankheiten eher durch die Intoxikation als durch die Asphyxie bedingt ist.

Über die Milchsäurebildung aus Traubenzucker, Glycerinaldehyd und Dioxyaceton im Rinder- und Schweineblut.

Von

Adam Loeb.

(Aus dem Städt. Chemisch-physiologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 2. April 1913.)

Nachdem durch die Untersuchungen von Embden und seinen Mitarbeitern[1]) gezeigt worden war, daß die glykolytische Umwandlung des Traubenzuckers im Blute ihrem Wesen nach nichts anderes ist, als eine Spaltung des Traubenzuckers unter Milchsäurebildung, konnte durch weitere Untersuchungen[2]) wahrscheinlich gemacht werden, daß als intermediäres Produkt bei dieser Milchsäurebildung allem Anscheine nach weitaus in erster Linie optisch aktiver Glycerinaldehyd und daneben vielleicht auch in geringerem Grade Dioxyaceton in Betracht kommt.

Die eben erwähnten Untersuchungen wurden ausschließlich am Hunde- und Menschenblut vorgenommen.

In einer kürzlich veröffentlichten Arbeit konnte ich[3]) zeigen, daß die Fähigkeit der Blutkörperchen verschiedener Tierarten, Traubenzucker abzubauen, in charakteristischer Weise verschieden ist, und es ergab sich nunmehr im Zusammenhalt mit den eingangs erwähnten Untersuchungen die Frage, ob, entsprechend der verschiedenen Angreifbarkeit des Traubenzuckers durch die Blutkörperchen der einzelnen Tierarten, auch Glycerinaldehyd bzw. Dioxyaceton durch das Blut der in Frage kommenden Tierarten verschieden leicht in Milchsäure umgelagert werden.

---

[1]) Kraske, diese Zeitschr. 45, 81, 1912. — Kondo, ebenda 45, 88. — von Noorden jr., ebenda 45, 94.

[2]) Embden, Baldes und Schmitz, ebenda 45, 108.

[3]) Loeb, ebenda 49, 413, 1913.

Meine früheren Versuche hatten unter anderem ergeben, daß Schweineblut keine oder eine kaum merkliche Glykolyse aufweist, während dem Rinderblut eine deutliche Glykolyse zukommt, die freilich weitaus schwächer als die im Menschen- und Hundeblut ist. Ich habe daher meine Untersuchungen in Ergänzung der früher von Embden, Baldes und Schmitz ausgeführten an den Blutkörperchen vom Schweine und vom Rinde vorgenommen.

Versuchsanordnung.

Die Versuchsanordnung entsprach vollkommen der von von Noorden jr. und von Embden, Baldes und Schmitz angewandten.

Die durch Zentrifugieren gewonnenen Blutkörperchen aus frischem, defibriniertem Schlachthausblut wurden zunächst dreimal mit zucker- und bicarbonatfreier Ringer-Lösung gewaschen; auf 100 ccm Blutkörperchenbrei kamen dann je 0,4 g der zu prüfenden Substanz in 100 ccm Ringer-Lösung gelöst. Die Proben wurden in Pulverflaschen mit Glasschliff 2 Stunden im Wasserbad von 40° gehalten, dann nach Schenck enteiweißt, so daß das Filtrat eine siebenfache Verdünnung des Blutkörperchenbreies darstellte. Je 500 ccm des entquecksilberten Filtrats wurden dann bei ganz schwach saurer Reaktion im Vakuum eingeengt, und die Milchsäure nach Ansäuern mit Phosphorsäure im Lindschen Apparat bis zur Erschöpfung extrahiert. Die Bestimmung der Milchsäure geschah nach dem Verfahren von v. Fürth und Charnaß in der im hiesigen Institute üblichen Weise.

Versuchsergebnisse.

Die Versuchsergebnisse gehen aus nachfolgender Tabelle hervor, die angibt, wieviel Milchsäure in je 500 ccm Blutkörperchenfiltrat enthalten ist (Kolonne 4 bis 9). Die hieraus berechnete Mehrbildung von Milchsäure durch 100 ccm Blutkörperchen unter dem Zusatz von Traubenzucker, d-l-Glycerinaldehyd und Dioxyaceton ist aus Kolonne 10 bis 12 ersichtlich. In sämtlichen Versuchen wurden, entsprechend dem früheren Vorgehen von Embden, Baldes und Schmitz außer dem sofort ohne Zusatz verarbeiteten Blutanteil (A_1) ein weiterer Anteil unter Zusatz von 0,4 g Glycerinaldehyd sofort gefällt (A_2). Durch möglichste Ab-

kürzung der Einleitung von Schwefelwasserstoff kann der durch den Glycerinaldehydzusatz bei Anwendung der von Fürth-Charnaßschen Milchsäuremethode bedingte Fehler anscheinend völlig beseitigt werden; jedenfalls liefern in beiden an Rinderblut vorgenommenen Versuchen (Versuch 1 und 2, Kolonnen 4 und 5) die unter Glycerinaldehydzusatz verarbeiteten Bestimmungen keine höheren Werte, als die leer verarbeiteten, so daß ich in den beiden folgenden am Schweineblut vorgenommenen Untersuchungen von einer Leerbestimmung A abgesehen habe.

An den gewaschenen Schweineblutkörperchen des Versuchs 4 wurden Zuckerbestimmungen angestellt: 100 ccm Blutkörperchen enthielten 12 mg Glucose nach Maquenne und 7 mg nach Tachau. Dieselben Blutkörperchen waren nicht imstande, aus zugesetztem Traubenzucker Mengen in sich aufzunehmen, die außerhalb der Fehlergrenze gelegen hätten.

Tabelle.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Versuch Nr.	Blutart	Datum	Gefundene Menge Milchsäure in Gramm pro 500 ccm Filtrat						Milchsäurezunahme gegenüber 100 ccm Blutkörperchen B_1 berechnet für je 100 ccm Blutkörperch.		
			sofort		nach 2 stündigem Wasserbadaufenthalt						
			A_1 ohne Zusatz	A_3 mit Glycerinaldehyd	B_1 ohne Zusatz	B_2 mit Glucose	B_3 mit Glycerinaldehyd	B_4 mit Dioxyaceton	B_2 mit Traubenzucker	B_3 mit Glycerinaldehyd	B_4 mit Dioxyaceton
1	Rind	7. X. 1912	0,0034	0,0018	0,0016	0,0068	0,1071	—	0,007	0,1477	—
2	„	16. X.	0,0059	0,0059	0,0090	0,0103	0,1071	0,0180	0,002	0,1373	0,013
3	Schwein	19. XI.	—	0,0099	0,0184	0,0180	0,0688	0,0387	0,0	0,0706	0,0284
4	„	5. XII.	—	0,0185	0,0194	0,0171	0,1035	0,0486	0,003 Abnahme	0,1177	0,0409

In den Rinderblutkörperchen hat sich ohne Zusatz (B_1, Kolonne 6) Milchsäure in einer die Fehlergrenzen übersteigenden Menge nicht gebildet. Dagegen bedingt Traubenzuckerzusatz (B_2, Kolonne 10) eine außerhalb der Fehlergrenze der Bestimmung gelegene geringe, aber deutliche Bildung von Milchsäure im ersten Versuch, eine weniger sinnfällige im zweiten Versuch. Bei Glycerinaldehydzusatz (B_3, Kolonne 8) entsteht Milchsäure in ganz beträchtlicher Menge; aus der Differenz

B_3—B_1 berechnet sich (Kolonne 11) im ersten Versuch für 100 ccm Blutkörperchen 0,1477 g Milchsäure, die aus 0,4 g Glycerinaldehyd entstanden sein müssen, gleich 36,9 % der theoretisch möglichen Ausbeute. In gleicher Weise berechnet, ergibt der zweite Versuch 0,1373 g Milchsäure, entsprechend 34,4 % der möglichen Ausbeute. Diese Werte liegen deutlich höher als die von Embden, Baldes und Schmitz am Hundeblut bei gleicher Versuchsanordnung maximal gefundenen 0,086 und 0,101 g pro 100 ccm Blutkörperchen gebildeter Milchsäure. Die Milchsäurebildung aus Dioxyaceton (Versuch 2, Kolonne 12) entspricht ungefähr den in der eben genannten Arbeit für Hundeblut ermittelten Verhältnissen.

Um die Natur der aus d-l-Glycerinaldehyd gebildeten Milchsäure zu ermitteln, wurde folgendermaßen vorgegangen:

Die dreimal gewaschenen Blutkörperchen von 2 l Rinderblut — 980 ccm — wurden unter Zugabe von 1020 ccm Ringer-Lösung und 4,0 g Glycerinaldehyd 2 Stunden bei 40° im Wasserbad gehalten. Nach der Schenckschen Fällung wurden 5 l des entquecksilberten — einer 7 fachen Verdünnung des zentrifugierten Blutkörperchenbreies entsprechenden — Filtrats im Vakuum bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur des Wasserbades bei schwach saurer Reaktion eingeengt, und unter Zugabe von Phosphorsäure im Lindschen Apparate extrahiert. Nach Zusatz von Wasser und Verjagung des Äthers wurde die Flüssigkeit 1/2 Stunde auf dem Dampfbade mit Bleicarbonat digeriert; nach der Abkühlung, Filtration und Entfernung des gelösten Bleies durch Schwefelwasserstoff wurde das Zinksalz in üblicher Weise dargestellt; es gelang sehr leicht, durch fraktionierte Krystallisation und Umkrystallisieren verschiedene Fraktionen zu erhalten.

Fraktion 1.

0,2783 g Substanz,
0,0509 g Wasser,

bestimmt durch Trocknen bei 105° bis zur Konstanz.

Wassergehalt des inaktiven Zinklactats

berechnet: 18,18 %
gefunden: 18,29 %.

0,2238 g der wasserfreien Substanz geben bei vorsichtiger Veraschung 0,074 g Zinkoxyd.

Zinkoxyd berechnet: 33,44 %
gefunden: 33,07 %.

Fraktion 2.

0,2022 g Substanz enthalten
0,0246 g Wasser.

Wassergehalt des aktiven Zinklactats
berechnet: 12,89 %
gefunden: 12,16 %.

Die Mutterlauge der Krystallisation, auf ein Volumen von 20 ccm gebracht, ergibt im 2-dm-Rohr eine Rechtsdrehung von 0,58°; die Lösung des Zinksalzes drehte also im Sinne des Zinksalzes der unnatürlichen l-Milchsäure.

Fraktion 3.

0,3528 g Substanz enthalten
0,0451 g Wasser = 12,78 %.

Diese 0,3077 g wasserfreien Zinklactats werden in Wasser zu einem Volumen von 16 ccm gelöst und ergeben im 2-dm-Rohr eine Rechtsdrehung von 0,34°. Daraus würde sich für diese 1,92 %ige Zinklactatlösung $\alpha_D = + 8{,}85^\circ$ berechnen, ein Wert, der sich nicht sehr weit von dem für reines unnatürliches Zinklactat entfernt.

Fraktion 4.

0,2007 g Substanz enthalten
0,0262 g Wasser = 13,05 %
0,1727 g der wasserfreien Substanz enthalten
0,0593 g Zinkoxyd.

Zinkoxyd berechnet: 33,4 %
gefunden: 34,3 %.

Vorstehende Analysen beweisen, daß das von mir gewonnene Zinklactat aus einem Gemenge von d-l-Zinklactat und unnatürlichem l-Zinklactat bestand, wobei letzteres der Menge nach überwog. Ich gelangte also in bezug auf die optische Natur der durch Rinderblutkörperchen aus d-l-Glycerinaldehyd

gebildeten Milchsäure im Prinzip zu dem gleichen Ergebnis, wie Embden, Baldes und Schmitz in ihren an Menschen- und Hundeblut ausgeführten Versuchen.

Bei den Versuchen mit gewaschenen Schweineblutkörperchen zeigte sich zunächst, daß Zusatz von Traubenzucker, wie wir nach den Ergebnissen unserer früheren Arbeiten erwarten durften, den Umfang der Milchsäurebildung nicht erhöhte: in beiden Versuchen (3 und 4) ist der B_2-Wert (Kolonne 7) sogar eine Kleinigkeit unter dem B_1-Wert (Kolonne 6), jedoch innerhalb der Fehlergrenze der Bestimmung. Glycerinaldehyd erhöht auch hier wieder den Umfang der Milchsäurebildung (Kolonne 11): sein Zusatz ergibt für 100 ccm Blutkörperchen im dritten Versuch ein Milchsäureplus von 0,0706 g = 17,6 $^0/_0$ der möglichen Ausbeute und im letzten Versuch ein Plus von 0,1177 g = 29,4 $^0/_0$ der möglichen Ausbeute. Diese Zahlen stimmen sehr gut überein mit den für das Hundeblut von Embden, Baldes und Schmitz ermittelten, sind aber etwas niedriger, als die am Rinderblut gewonnenen.

Sehr auffällig ist der starke Einfluß des Dioxyacetons auf die Milchsäurebildung durch Schweineblutkörperchen. Es fanden sich (Kolonne 12), auf je 100 ccm Blutkörperehen berechnet, 0,0284 g bzw. 0,0409 g Milchsäurevermehrung, also recht hohe Werte, soweit ein Vergleich mit den erwähnten Hundeblutversuchen wegen der verschiedenen Dauer statthaft ist.

Zusammenfassend kommen wir also zu dem Ergebnis, daß die Schweine- und Rindererythrocyten, die den Blutzucker bei der Glykolyse nicht oder nicht nennenswert angreifen, die bei Zusatz von Traubenzucker keine oder nur eine minimale Milchsäurebildung aufweisen, ein höheres (Rinderblut) oder ebenso hohes (Schweineblut) Vermögen zeigen, Glycerinaldehyd in Milchsäure umzulagern, als die gut glykolysierenden Blutkörperchen vom Hunde.

Ferner sei hervorgehoben, daß Schweineblutkörperchen weitaus leichter als Hundeblutkörperchen und auch als Rinderblutkörperchen Dioxyaceton in Milchsäure umlagern.

Über Milchsäurebildung aus Kohlenhydrat im lackfarbenen Blute.

Von

Walter Griesbach.

(Aus dem Städt. Chemisch-physiologischen Institut zu Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 2. April 1913.)

Die Glykolyse im weitesten Sinne, d. h. die zuckerspaltende Kraft tierischer Organe, resp. der Organsäfte, ist auch heute noch ein sehr umstrittenes Gebiet, trotz der vielen auf demselben geleisteten Arbeit.

Kraus[1]), Spitzer[2]), Umber[3]) setzten Glykolyse gleich der oxydativen Tätigkeit im allgemeinen, Lépine[4]) vor allem und Jacoby[5]) glauben an ein glykolytisches Ferment, das unabhängig und artfremd dem oxydativen Prozeß ist.

Vielfach hat man versucht, dieses Ferment aus Organen in zellfreien Preßsäften zu isolieren, anfangs ohne bakterielle Einwirkung genügend zu beachten (Stoklasa[6]), später unter möglichster Asepsis. Man hat den Eindruck, daß außer dem Blut, auf das wir noch ausführlich zu sprechen kommen werden, vielleicht der Leber (Magnus-Levy[7]) und der Muskulatur (Cohnheim[8]) eine glykolytische Wirkung zukommt.

Das Blut besitzt nun in hervorragender, oder wenigstens besonders leicht demonstrierbarer, Weise die Fähigkeit der Glykolyse, so daß Lépine in seiner Monographie über die Zuckerkrankheit[9]) die Glykolyse in engerem Sinne definiert als den nichtoxydativen, zuckerspaltenden

---

1) F. Kraus, Zeitschr. f. klin. Med. 21, 315.

2) W. Spitzer, Arch. f. d. ges. Physiol. 60, 303.

3) F. Umber, Zeitschr. f. klin. Med. 39, 13.

4) R. Lépine, Compt. rend. 120, 139.

5) M. Jacoby, Virchows Archiv 157, 235.

6) J. Stoklasa, Arch. f. d. ges. Physiol. 101, 311; Chem. Ber. Jahrg. 38, 664 ff.

7) Magnus-Levy, Beiträge z. chem. Physiol. 2, 261.

8) O. Cohnheim, Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 253 ff.

9) R. Lépine, Le Diabéte sucré. Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 151 ff.

Prozeß im Blute. Freilich haben spätere Untersuchungen die ursprüngliche Anschauung Lépines, daß die krankhafte Veränderung des Zuckerstoffwechsels beim Diabetes mellitus im wesentlichen auf einer Störung der glykolytischen Fähigkeit des Blutes beruhte, nicht bestätigen können.

Die Produkte des glykolytischen Prozesses waren bis vor kurzem sehr umstritten, und viele Arbeiten über Glykolyse suchen nur die Menge verschwindenden Zuckers festzustellen, ohne sich mit seinen Umwandlungsprodukten zu beschäftigen. Man wußte, es verschwindet Zucker aus dem Blute in vitro — das war schon Claude Bernard, Böhm und Hoffmann bekannt —, man wußte ferner, daß zu diesem Vorgang die Formelemente des Blutes, und zwar in intakter Form, vonnöten sind — Serum allein glykolysiert nicht —, und Lépine hat eine Reihe weiterer Bedingungen, unter denen die Glykolyse gefördert oder geschädigt wird, festgestellt.

Erst Untersuchungen aus der allerletzten Zeit[1]) haben hier aufklärend gewirkt. Es gelang nämlich B. Kraske[2]) und K. Kondo[3]), eine dem verschwundenen Zucker äquivalente Menge Milchsäure nachzuweisen, nachdem durch die Arbeiten von Embden und Kraus[4]) und S. Oppenheimer[5]) die Milchsäure als Abbauprodukt der Kohlenhydrate in der künstlich durchströmten Leber erwiesen war. Diese Versuche wurden fortgesetzt durch K. v. Noorden[6]), der zu zuckerfrei gewaschenen Blutkörperchen Glucose zusetzte und die, aus diesem zugesetzten Zucker entstandene, Milchsäure als d-Milchsäure zu identifizieren vermochte.

Auch über die Wege, die zur Umwandlung eines Glucosemoleküles zu zwei Milchsäuremolekülen führen, konnten ziemlich genaue Vorstellungen gewonnen werden. Es wurde nämlich festgestellt[7]), daß von den beiden Triosen, Glycerinaldehyd und Dioxyaceton, die erstere weitaus stärker als die letztere und auch weit mehr als Traubenzucker durch gewaschene Blutkörperchen und auch in der künstlich durchströmten Leber in Milchsäure umgewandelt wird.

Die hierbei beobachteten sterischen Eigenschaften der entstehenden Milchsäure ließen, unter der Voraussetzung, daß Glycerinaldehyd überhaupt ein intermediäres Produkt des normalen tierischen Kohlenhydratstoffwechsels ist, die Annahme als durchaus zwingend erscheinen, daß

---

[1]) G. Embden und seine Mitarbeiter, diese Zeitschr. 45, 1 bis 206.

[2]) B. Kraske, Über Milchsäurebildung im Blute. II. Mitteil. l. c.

[3]) K. Kondo, Über Milchsäurebildung im Blute. III. Mitteil. l. c.

[4]) G. Embden und F. Kraus, Über Milchsäurebildung in der künstlich durchströmten Leber. I. Mitteil. l. c.

[5]) S. Oppenheimer, Über Milchsäurebildung in der künstlich durchströmten Leber. II. Mitteil. l. c.

[6]) K. v. Noorden jr., Über Milchsäurebildung im Blute. IV. Mitteilung l. c.

[7]) G. Embden, K. Baldes und E. Schmitz, Über den Chemismus der Milchsäurebildung aus Traubenzucker im Tierkörper. Diese Zeitschr. 45, 108.

die Bildung von Milchsäure aus Glycerinaldehyd unter dauernder Erhaltung der asymmetrischen Beschaffenheit des mittleren Kohlenstoffatomes des Glycerinaldehyds erfolgt. Hierdurch waren mehrere, bis dahin als solche in Betracht kommende Zwischenprodukte bei der Bildung von Milchsäure aus Glycerinaldehyd ausgeschlossen, so namentlich Methylglyoxal und Brenztraubensäure.

Bis zum Milchsäurestadium wird also der Zucker auf nicht oxydativem Wege durch Spaltung und Umlagerung abgebaut.

Jeder weitere Zuckerabbau ist oxydativ. Auch oxydative Vorgänge spielen sich zweifellos im Blute ab, wenn auch in geringem Maße. Wie denn Warburg[1]) einen zwar unbedeutenden, beim normalen erwachsenen Menschen nicht mit Sicherheit meßbaren oxydativen Stoffwechsel der intakten Blutkörperchen nachweisen konnte. Dafür sprechen aber auch neue, noch unveröffentlichte Versuche von Embden und Schmitz, die die oxydative Kraft des Blutes durch Blausäure hemmten, und nun eine, vor allem bei jugendlichen Erythrocyten größere, Ausbeute an Milchsäure als ohne Blausäurezusatz erhielten.

Der Versuch, auch aus tierischen Organen, ganz ähnlich wie das durch die Arbeiten von E. und H. Buchner und Hahn[2]) usw. für die Hefezellen gelungen ist, das zuckerspaltende Ferment getrennt von seinem natürlichen Substrat, der lebenden Zelle, zu gewinnen, ist bekanntlich des öfteren gemacht worden.

Für das Blut konnte man es nach Versuchen von P. Rona und A. Döblin[3]) aus dem Jahre 1911 als sicher betrachten, „daß die Glykolyse im Blut hauptsächlich an die intakten Formelemente desselben geknüpft sei", lackfarbenes Blut spaltet Traubenzucker nicht mehr. In demselben Sinne sprachen auch frühere, von Lépine[4]) angeführte Versuche über den Einfluß der Hämolyse auf die Glykolyse.

Ich habe nun eine Reihe von Versuchen angestellt, auf Grund der Auffassung, daß der nichtoxydative Zuckerabbau in mindestens zwei Phasen zerfällt, nämlich erstens in die Spaltung des Traubenzuckers in zwei Moleküle Triose (optisch aktiven Glycerinaldehyd), und zweitens in die Umlagerung des entstandenen aktiven Glycerinaldehyds in die natürliche d-Milchsäure. Diese Auffassung des Chemismus der Milchsäurebildung aus Traubenzucker führte dazu, die Teilnahme mindestens zweier,

---

[1]) O. Warburg, Zur Biologie der roten Blutzellen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 112.

[2]) E. und H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung.

[3]) P. Rona und A. Döblin, Beiträge zur Frage der Glykolyse. II. Mitteil. Diese Zeitschr. 32, 489.

[4]) R. Lépine, l. c.

voneinander verschiedener Fermente an diesem Prozeß anzunehmen, von denen das eine, Zucker in Triose spaltende, offenbar an die Struktur der Zelle in irgendeiner Weise geknüpft war, das andere aber möglicherweise, unabhängig von der Zellstruktur, in Lösung gehen konnte.

Um diese Frage zu entscheiden, habe ich meine Versuche an lackfarbenem Rinder- und Hundeblut angestellt, das, wie ich feststellte, unter den von mir gewählten Versuchsbedingungen aus Traubenzucker keine Milchsäure bildete, und habe zu dieser „Blutflüssigkeit" Glycerinaldehyd zugesetzt. In drei Versuchen habe ich außer Dextrose und Glycerinaldehyd auch Dioxyaceton auf seine milchsäurebildende Fähigkeit untersucht, um die Wertigkeit auch dieser Triose festzustellen.

Methodisches.

Meine Methodik war in allen Versuchen die gleiche. Ich arbeitete nach Möglichkeit unter aseptischen Kautelen, das heißt, unter ausschließlicher Benutzung steriler, eisgekühlter Gefäße bei der Präparation des Blutes. Diese geschah in folgender Weise:

1 l Blut wurde, wie das früher von K. von Noorden beschrieben ist, durch Zentrifugieren vom Serum befreit, die Blutkörperchen wiederum durch Zentrifugieren mit steriler zuckerfreier Ringer-Lösung gewaschen. Dabei erhält man, nach Absaugen der letzten Waschflüssigkeit, ca. $^1/_2$ l Blutkörperchenaufschwemmung. Diese wurde beim Rinderblut mit der doppelten, beim Hundeblut mit der 3fachen Menge destillierten Wassers versetzt und 2 Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Der nunmehr lackfarbenen Flüssigkeit wurden pro 100 ccm verwendeten destillierten Wassers 0,85 g Kochsalz zugesetzt. Dabei veränderte sich das Rinderblut nicht sichtbar. In dem Hundeblut dagegen trat während des Auflösens des Salzes eine Trübung ein und die Flüssigkeit wurde allmählich wieder opak. Ich zentrifugierte unbekümmert darum die Flüssigkeit jetzt wieder, und zwar auf einer großen, sehr rasch laufenden Zentrifuge. Dabei erhielt ich aus dem Hundeblut ein beträchtliches, aus dem Rinderblut ein geringes Sediment, das, wie ich mich überzeugte, aus Leukocyten und beim Hund aus zwar deutlich deformierten, aber noch tingierbaren Erythrocyten bestand.

Die überstehende Flüssigkeit wurde abgehebert und wiederum zentrifugiert. Jetzt erhielt ich ein dem Boden anhaftendes Sediment, das aus Stromata bestand und andererseits eine mikroskopisch von strukturellen Elementen völlig freie klarrote Flüssigkeit. Ich glaube, auf diese Weise das „Blut", soweit das überhaupt ohne ev. schädliche Prozeduren (Ätherschüttelung) möglich ist, zellfrei gemacht zu haben.

Je 50 ccm ursprünglicher Blutkörperchenaufschwemmung entsprechende Mengen hämolytischen Blutes, d. h. je 100 ccm Rinder- und je 150 ccm Hundeblutflüssigkeit (in Versuch 1 und 3 die doppelte Menge, s. Tabelle II) wurden nun versetzt mit je 0,4 g Dextrose bzw. Glycerinaldehyd und Dioxyaceton (in 25 ccm 0,85 $^0/_0$iger Kochsalzlösung gelöst) und 2 Stunden lang in hermetisch verschlossenen, sterilen Glasflaschen im Wasserbade bei 40^0 gehalten. Dann wurde mit der Schenckschen Methode enteiweißt und nach Entquecksilberung gleiche Filtratmengen bei schwachsaurer Reaktion im Vakuum bei 40^0 auf ca. 150 ccm eingeengt, alsdann bei phosphorsaurer Reaktion im Lindschen Apparat mit Äther erschöpfend extrahiert und in der im hiesigen Institute üblichen Weise die Milchsäurebestimmungen nach dem von Fürth und Charnaßschen Verfahren angestellt.

Die Ergebnisse sind in der umstehenden Tabelle I zusammengestellt.

Fünf von den 8 Versuchen wurden an Rinderblut (Versuch 1 bis 5), die 3 übrigen an Hundeblut vorgenommen. Aus Kol. 3 geht die Menge Milchsäure hervor, die in dem lackfarbenen Blut aus 100 ccm Blutkörperchen vor dem Stehen bei 40^0 gefunden wurde. Hierbei ist zu bedenken, daß, wie oben erwähnt, ein Teil der Blutkörperchen, namentlich beim Hundeblut, durch den Wasserzusatz unzerstört blieb und beim Zentrifugieren unter Salzzusatz entfernt war. Beim Rinderblut schwankt der Milchsäuregehalt des sofort verarbeiteten Blutes zwischen 0,0088 $^0/_0$ in Versuch 1 und 0,0194 $^0/_0$ in Versuch 2. Der in Versuch 5 angegebene Wert ist wohl ein klein wenig zu hoch, weil ich hier auch zu dem sofort verarbeiteten Blute Glycerinaldehyd hinzufügte, wodurch nach den Angaben von Embden, Baldes und Schmitz[1]) und nach einem Vergleich zwischen A_1 und A_2 im

[1]) l. c.

Tabelle I.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Versuchszahl	Tierart	Auf 100 ccm Blutkörperchen berechnete Menge Milchsäure in g						$B_3 - B_1$ a) Aus Glycerinaldehyd gebildete Milchsäure in g b) in % des zugesetzten Glycerinaldehyds	$B_4 - B_1$ a) Aus Dioxyaceton gebildete Menge Milchsäure in g b) in % des zugesetzten Dioxyacetons	Bemerkungen
		A_1 ohne Zusatz	A_2 mit Zusatz	B_1 ohne Zusatz	B_2 mit Dextrose	B_3 mit Glycerinaldehyd	B_4 mit Dioxyaceton			
1	Rind	0,0088	0,0158	0,0203		0,1475		a) 0,1272 b) 31,8		A_2 mit Glyc.-Ald.
2	Rind	0,0194		0,0258	0,0210	0,2556		a) 0,2298 b) 28,7		
3	Rind	0,0095		0,0098	0,0098	0,1204		a) 0,1106 b) 27,8		
4	Rind			0,0110	0,0170	0,2684	0,0378	a) 0,2574 b) 32,0	a) 0,0268 b) 3,3	
5	Rind		0,0138			0,2178		a) 0,2040 b) 25,5		Diff. B_3–A_2 mit Glyc.-Ald.
6	Hund			0,0204		0,0936		a) 0,0722 b) 9,1		
7	Hund	0,0212		0,0168	0,0248	0,0930	0,0530	a) 0,0762 b) 9,5	a) 0,0318 b) 3,9	
8	Hund		0,0198	0,0082	0,0062	0,1202	0,0308	a) 0,1120 b) 14,0	a) 0,0110 b) 1,3	A_2 mit Dioxyac.

Versuch 1 die Milchsäurewerte etwas zu hoch erscheinen. Nach 2stündigem Stehen ohne Zusatz ist in den Versuchen 1 und 2 eine geringe Vermehrung der Milchsäure eingetreten. In den Versuchen 3, 7 und 8 ist eine derartige Vermehrung nicht vorhanden, im Gegenteil, die nach dem Stehen bei 40° gefundenen Werte erscheinen z. T. etwas geringer als die an der sofort bearbeiteten Blutflüssigkeit ermittelten. Jedoch liegen die sämtlichen Verschiedenheiten zwischen den sofort und nach 2 Stunden verarbeiteten Leerbestimmungen innerhalb der Fehlergrenzen der Bestimmung, bis auf den Versuch 1. Wichtiger, als der Vergleich zwischen dem sofort ermittelten und dem nach 2 Stunden ohne Zusatz erhaltenen Milchsäuregehalt, erscheint die Gegenüberstellung der nach 2stündigem Stehen ohne Zusatz und unter Zusatz von Dextrose, resp. von Glycerinaldehyd und Dioxyaceton gewonnenen Werte. Die Blutflüssigkeiten, die unter Zusatz von Traubenzucker 2 Stunden stehen blieben,

zeigen in keinem Falle Abweichungen von den entsprechenden Leerversuchen, die außerhalb der Fehlergrenze der Bestimmung gelegen sind. In Versuch 3 sind die beiden Werte identisch. In den Versuchen 2 und 8 wurde in dem mit Zucker versetzten Blute etwas weniger, in den Versuchen 4 und 7 etwas mehr als in der entsprechenden Leerbestimmung gefunden. Der höchste bei der Titration ermittelte Unterschied beträgt aber nur 0,7 ccm (s. Tabelle II). Unter den von mir gewählten Versuchsbedingungen erfolgt also im lackfarbenen Blute ein Abbau des Traubenzuckers zu Milchsäure nicht.

Ein Blick auf die Kolonnen 7 und 9, Tabelle I, zeigt nun, daß ganz im Gegensatz dazu die Milchsäurebildung aus Glycerinaldehyd außerordentlich hohe Werte erreichte. Die Menge des umgewandelten Glycerinaldehyds war besonders hoch in den Versuchen am Rinderblut, ganz entsprechend der Erfahrung A. Loebs[1]), daß auch die gewaschenen Blutkörperchen dieser Tierart in besonders hohem Maße Milchsäure aus Glycerinaldehyd bilden. In den ersten 4 Versuchen der Tabelle schwankt die Menge der aus Glycerinaldehyd in Rinderblutflüssigkeit gebildeten Milchsäure zwischen 0,1106 g, in der Blutflüssigkeit aus 100 ccm Blutkörperchen in Versuch 3, bis 0,2574 g in Versuch 4. Für den Versuch 5 steht eine Leerbestimmung B nicht zur Verfügung; legen wir zum Versuch die unter Glycerinaldehydzusatz vorgenommene Leerbestimmung A zugrunde — was nach den oben mitgeteilten Ergebnissen durchaus statthaft ist —, so kommen wir auch in diesem Versuch, in dem, im Gegensatz zu den bisher besprochenen, der Aufenhalt der Blutkörperchen bei 40° nur 90 Minuten dauerte, zu dem Werte von 0,2040 g.

Auch in den Versuchen am Hundeblut wurde prinzipiell ganz das gleiche Resultat gewonnen, nur daß die Werte hier sämtlich wesentlich niedriger als am Rinderblut sind. Es schwankt die aus der 100 ccm Blutkörperchen entsprechenden Blutflüssigkeit gebildete Milchsäuremenge zwischen 0,0722 g in Versuch 6 und 0,1120 g in Versuch 8. Die von mir am Hundeblut gewonnenen Werte sind mit den von Embden, Baldes und Schmitz an intakten Blutkörperchen erhaltenen nicht ohne weiteres vergleichbar, da ich, im Verhältnis zu den Blut-

[1]) A. Loeb, diese Zeitschr., 49, 413, 1913.

körperchen, in meinen Versuchen die doppelte Menge Glycerinaldehyd, wie die eben genannten Autoren, hinzufügte.

Freilich scheint aus den Versuchen 1 bis 5, die allerdings am Rinderblut vorgenommen wurden, hervorzugehen, daß das Glycerinaldehyd in Milchsäure umlagernde Ferment in so großem Überschusse vorhanden war, daß ein Einfluß der Fermentverdünnung bei meinen Versuchen an Rinderblutflüssigkeit nicht hervortritt. Ich setzte, wie bereits erwähnt, in meinen sämtlichen Versuchen der Blutflüssigkeit die gleichen Glycerinaldehydmengen, nämlich 0,4 g, zu.

In den Versuchen 1 und 3 verwandte ich eine 100 ccm gewaschenen Blutkörperchen entsprechende Menge Blutflüssigkeit, in den Versuchen 2, 4, 5 eine 50 ccm entsprechende. In allen 5 Versuchen ist trotzdem die Menge der aus 0,4 g Glycerinaldehyd gebildeten Milchsäure eine überaus ähnliche (25,5 $^0/_0$ in Versuch 5 bis 32,0$^0/_0$ des zugesetzten Glycerinaldehyds in Versuch 4). In Prozenten der angewandten Blutkörperchenmenge erscheint dementsprechend natürlich die Zunahme in den Versuchen mit 100 ccm Blutkörperchen nur halb so groß wie in denen mit 50 ccm.

Mit Dioxyaceton wurden am Hundeblut 2 Versuche (Versuch 7 und 8), am Rinderblut nur einer (Versuch 4, Kolonne 8 und 10, Tabelle I) angestellt. Die in diesen drei Versuchen aus Dioxyaceton erfolgende Milchsäurebildung war weitaus geringer als die Milchsäurebildung aus Glycerinaldehyd, wie besonders deutlich aus einem Vergleich der Kolonnen 9 und 10 hervorgeht. Die Milchsäurebildung aus Dioxyaceton schwankte zwischen 0,0110 g in Versuch 8 und 0,0318 g in Versuch 7. In letzterem Versuche bildete sich aus Dioxyaceton erheblich weniger als die Hälfte der aus Glycerinaldehyd gebildeten Milchsäure, in Versuch 8 weniger als $^1/_{10}$, in Versuch 4 weniger als $^1/_9$.

Auch diese Tatsache entspricht ganz der Feststellung von Embden, Baldes und Schmitz, daß gewaschene Blutkörperchen und auch die künstlich durchblutete Leber aus Dioxyaceton in weitaus geringerem Maße als aus Glycerinaldehyd Milchsäure bilden.

Besonders deutlich tritt der Unterschied in der Milchsäurebildung aus Glycerinaldehyd und Dioxyaceton durch gelöste Blutkörperchen bei einem Vergleich der in Kolonnen 9 und 10 unter „b" berechneten Werte für die Milchsäurebildung in Prozenten der zugesetzten Triose hervor. In Versuch 4 sind

von dem zugesetzten Dioxyaceton nur 3,3 % in Milchsäure umgewandelt, während der entsprechende Wert für Glycerinaldehyd 32,0 % beträgt, während in dem mit Hundeblut angestellten Versuche 7 die entsprechenden Werte für Milchsäurebildung aus Dioxyaceton und Glycerinaldehyd 3,9 % und 9,5 %, in Versuch 8, der ebenfalls mit Hundeblut vorgenommen wurde, 1,3 % und 14,0 % betrugen.

Durch die Untersuchungen von Embden, Baldes und Schmitz wurde festgestellt, daß die aus d-l-Glycerinaldehyd durch Blutkörperchen gebildete Milchsäure ein Gemenge von d-l-Milchsäure und unnatürlicher l-Milchsäure darstellte. Es erschien von Wichtigkeit, zu untersuchen, ob das optische Verhalten der gebildeten Milchsäure auch bei Verwendung zellfreier Blutflüssigkeit dasselbe ist. Das ist nun in der Tat der Fall. In einem mit einer größeren Menge zellfreier Blutflüssigkeit und entsprechend größerer Menge d-l-Glycerinaldehyd angestellten Versuche wurde die in üblicher Weise durch Ätherextraktion gewonnene Milchsäurelösung in das Zinksalz überführt. Die Lösung des Zinksalzes drehte sehr deutlich nach rechts, also im Sinne der unnatürlichen Milchsäure.

Durch fraktionierte Krystallisation konnte aus der Lösung des Zinksalzes ein relativ schwer löslicher Krystallisationsanteil gewonnen werden, der nach Krystallwassergehalt und optischem Verhalten ein Gemenge von racemischer und unnatürlicher Milchsäure darstellte. Aus der Mutterlauge dieser Krystallisation konnte durch Fällung mit Alkohol und mehrmaliges Umkrystallisieren annähernd optisch reines, l-milchsaures Zink dargestellt werden. Die analytischen Daten für die optische Untersuchung, die Krystallwasser- und Zinkbestimmung an den eben besprochenen Zinksalzen und ebenso die analytischen Belege für die Milchsäurebestimmungen, die der Tabelle I zugrunde liegen, sind in dem Protokollauszug (Tabelle II) am Schlusse der Arbeit niedergelegt[1]).

[1]) Es gelang nicht, das aus Dioxyaceton gebildete milchsaure Zink zu isolieren, wegen der geringen Menge gebildeter Milchsäure. Doch gelang dies ohne Mühe mit Schweineblut, das erheblich stärker aus Dioxyaceton Milchsäure bildet. Ich erhielt reines, natürliches Zinklactat. Die Untersuchungen darüber, ob Hundeblut aus Dioxyaceton tatsächlich racemische Milchsäure bildet, wie es in einem Versuche von Embden, Baldes und Schmitz den Anschein hatte, werden fortgesetzt.

Die wesentlichsten Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung sind folgende:

1. Es gelingt, aus dem Blute vom Rind und vom Hund zellfreie Blutkörperchenlösungen darzustellen, die, ohne eine Einwirkung auf d-Glucose zu besitzen, die Umlagerung von d-l-Glycerinaldehyd und Dioxyaceton zu Milchsäure in demselben Maße vollziehen wie intakte Blutkörperchen[1]).

2. Blutflüssigkeit bildet aus d-l-Glycerinaldehyd, ebenso wie intakte Blutkörperchen, ein Gemenge von racemischer und l-Milchsäure.

3. Diese Resultate führen zu der Schlußfolgerung, daß die beiden Hauptphasen, in denen die Umwandlung von Triose in Milchsäure erfolgt, in verschiedenem Grade an die Intaktheit der Zellen gebunden sind. Die erste Phase, die nach den Anschauungen Embdens und seiner Mitarbeiter vom Traubenzucker bis zum Glycerinaldehyd führt, war bei meiner Versuchsanordnung nicht mehr erhalten, während die zweite Phase, die Umwandlung von Glycerinaldehyd in Milchsäure, anscheinend völlig ungestört verlief.

4. Am einfachsten dürfte dieses Verhalten so zu erklären sein, daß die Umwandlung von Traubenzucker in Milchsäure durch mindestens zwei verschiedene Fermente erfolgt, von denen das Traubenzucker in Glycerinaldehyd spaltende Ferment bei Schädigung der Zellstruktur überaus leicht zerstört wird, während das zweite, Glycerinaldehyd in Milchsäure umlagernde Ferment durch die gleichen Zellschädigungen unbeeinflußt bleibt.

Analysen.

Zinklactat aus Rinderblut nach dem Stehen mit Glycerinaldehyd (s. oben S. 461):

0,1868 g Substanz enthielten 0,0221 g H_2O.

$(C_3H_5O_3)_2Zn + 2\,H_2O$. Ber. H_2O: 12,89%
Gef. " : 11,83%

---

[1]) In neuester Zeit ist es P. Rona und F. Arnheim (diese Zeitschr. 48, 35 ff.) gelungen, das Verschwinden von Traubenzucker auch in lackfarbenem Blute nachzuweisen, wenn sie der Blutalkalescenz entsprechende Mengen Phosphat oder Carbonat sofort nach der Hämolysierung mit destilliertem Wasser zusetzten.

0,1649 g Substanz gaben 0,0561 g ZnO

$(C_3H_5O_3)_2Zn$. Ber. ZnO: 33,34 %

Gef. „ : 34,02 %

Polarimetrische Untersuchung im 2-dcm-Rohr:

0,2014 g wasserfreier Substanz in 19,4650 g H_2O:

Spez. Gewicht bei 22° = 1,0065

Ablesung im Mittel: + 0,19° (± 0,01°)

Daraus: $[\alpha]_D = + 9,20^0$.

Tabelle II.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zahl der Versuche	Dauer des Aufenthaltes bei 40° Min.	Blutkörperchen: lackfarbenes Blut. Verdünnung b. d. Schenckschen Fällung	Verarbeitete Filtratmengen ccm	Bei der Milchsäurebestimmung gebundene n/10-Jodlösung in ccm					
				A_1 ohne Zusatz	A_2 mit Zusatz	B_1 ohne Zusatz	B_2 mit 0,4 g Dextrose	B_3 mit 0,4 g Glycerinaldehyd	B_4 mit 0,4 g Dioxyaceton
1	120	100:200 1200	800	1,30	2,35	3,00	—	21,55	—
2	120	50:100 600	450	1,61	—	2,15	1,75	21,30	—
3	120	100:200 700	500	1,50	—	1,55	1,55	19,10	—
4	120	50:100 350	260	—	—	0,90	1,40	22,00	3,10
5	90	50:100 350	250	—	1,10	—	—	17,30	—
6	120	50:150 450	300	—	—	1,70	—	7,80	—
7	120	50:100 400	280	1,90	—	1,50	2,20	5,25	4,70
8	120	50:150 450	350	—	1,80	0,80	0,60	11,65	3,00

Über die quantitative Bestimmung der Milchsäure im Harne.

Von

Hiromu Ishihara (Tokio).

(Ausgeführt unter Leitung des a. ö. Prof. O. v. Fürth im physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 3. April 1913.)

Angesichts der großen Bedeutung, die der Milchsäure zweifellos im Chemismus des Stoffwechsels zukommt, bedarf die Wichtigkeit der Ausarbeitung eines exakten Verfahrens zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure im Harne keiner besonderen Betonung. Ich bin daher einer Aufforderung des Herrn Prof. v. Fürth, das von ihm gemeinsam mit Charnaß ausgearbeitete Bestimmungsverfahren der Milchsäure in wässerigen Lösungen (das inzwischen von Mondschein auch eiweißhaltigen kolloidalen Systemen, sowie Flüssigkeiten, die gleichzeitig Oxybuttersäure enthalten, angepaßt worden ist), der Ermittelung der Milchsäure im Harne dienstbar zu machen[1]), um so bereitwilliger nachgekommen, als die bisher zu diesem Zwecke angewandten Methoden keinerlei Anspruch auf Genauigkeit zu erheben vermögen.

In Anbetracht des Umstandes, daß der Harn, insbesondere unter pathologischen Bedingungen, erhebliche Mengen von Substanzen (z. B. von Kohlenhydraten) enthalten kann, die

---

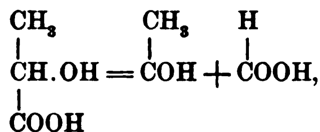
[1]) O. v. Fürth und D. Charnaß, Über die quantitative Bestimmung der Milchsäure durch Ermittlung der daraus abspaltbaren Aldehydmenge. Diese Zeitschr. 26, 199, 1910. — J. Mondschein (unter Leitung von O. v. Fürth), Quantitative Bestimmung der Milchsäure neben β-Oxybuttersäure. Ibid. 42, 91, 1912. — Derselbe, Über die quantitative Bestimmung von Milchsäure bei Gegenwart von Eiweißkörpern. Ibid. 42, 105, 1912.

bei der Permanganatoxydation aldehydartige Stoffe liefern, konnte man nicht daran denken, den Harn direkt dem Verfahren von Fürth und Charnaß zu unterwerfen. Es ergab sich vielmehr die Notwendigkeit, die Milchsäure zunächst durch Ätherextraktion dem Harne zu entziehen und so von allen in Äther unlöslichen Substanzen abzutrennen. Dies setzt aber wiederum zunächst eine exakte Durcharbeitung des Problems voraus, unter welchen Bedingungen die Milchsäure einer wässerigen Flüssigkeit vollständig entzogen werden kann, wobei uns immerhin, dank den Arbeiten des Embdenschen Laboratoriums[1]), bereits wertvolle Erfahrungen zur Verfügung standen.

Da bei einem derartigen Vorgange (infolge des ungünstigen Verhältnisses, in dem sich Milchsäure zwischen Äther und Wasser verteilt), eine langdauernde und umständliche Extraktionsprozedur nicht vermieden werden kann, schien uns ein (weiter unten zu beschreibendes) Verfahren von Ryffel zur Bestimmung der Milchsäure im Harne, bei dem die Extraktion ganz umgangen wird, immerhin beachtenswert. Ich schicke daher eine Reihe von Beobachtungen über die Leistungsfähigkeit dieses Verfahrens, bzw. einer zweckmäßigen Modifikation desselben, der Mitteilung meiner Extraktionsversuche voraus.

I. Modifikation des Ryffelschen Verfahrens zur direkten Milchsäurebestimmung im Harne.

Bei dem von Ryffel[2]) angegebenen Bestimmungsverfahren wird die im Harn enthaltene Milchsäure durch Destillation mit $50\,^0/_0$iger Schwefelsäure direkt in Acetaldehyd und Ameisensäure aufgespalten,



[1]) Vgl. G. Embden, Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 5, 1255 bis 1259, 1912.

[2]) J. H. Ryffel, A new method for the estimation of lactic acid in urine. Journ. of Physiol. 39; Proc. Physiol. Soc. 5, 1909. — Guys Hospit. Rep. 63, 289, 1909.

worauf der Aldehyd auf Grund der Rotfärbung, die derselbe mit durch schweflige Säure gebleichter Rosanilinlösung gibt, colorimetrisch geschätzt wird.

Ich ging nun zunächst daran, die Frage, ob die Aldehydausbeute bei dem Destillationsvorgange nach Ryffel tatsächlich eine annähernd quantitative sei, einer eingehenden experimentellen Prüfung zu unterziehen, wobei es zweckmäßig schien, das nicht ausreichend geprüfte Verfahren der colorimetrischen Aldehydbestimmung mittels Rosanilin durch das ausgezeichnete, auf Bisulfitaddition basierende, jodometrische Verfahren von Ripper[1]), das nahezu theoretische Werte liefert, zu ersetzen.

Die Milchsäurebestimmung wurde zunächst nicht im Harne, sondern in reinen wässerigen Lösungen vorgenommen und die Destillation unter sorgfältiger Einhaltung der Ryffelschen Vorschriften durchgeführt.

Dabei wurden 40 ccm der Milchsäurelösung in einen Rundkolben von $^1/_2$ l Inhalt gebracht und unter Kühlung unter der Wasserleitung mit 45 ccm konzentrierter Schwefelsäure, die aus einem Hahntrichter tropfenweise hinzugefügt wurde, versetzt. Nunmehr wurde der Kolben mit dem von Fürth und Charnaß angegebenen Kühl- und Absorptionsapparate (diese Zeitschr. 26, 211, Fig. 2) verbunden, ein lebhafter Dampfstrom durch den Kolben geleitet, wobei ein in die Flüssigkeit eintauchendes Thermometer eine Kontrolle der Temperatur gestattete. Sodann wurde die Flüssigkeit durch Erhitzen des Kolbens auf dem Drahtnetze in lebhaftem Sieden erhalten. Nachdem die Destillation bei etwa 140° begonnen hatte, wurde der Dampfstrom reduziert, die Temperatur schnell auf etwa 155° gesteigert und dieselbe nunmehr durch Regulierung des Dampfstromes und der Heizflamme innerhalb der Grenzen von 153 bis 157° dauernd erhalten. Die Prozedur war beendigt, nachdem 100 bis 200 ccm übergegangen waren, was etwa $^3/_4$ bis 1 Stunde in Anspruch nahm.

Nunmehr wurde die Aldehydbestimmung nach Rippers Vorgange durchgeführt und aus der Zahl Kubikzentimeter verbrauchter $^n/_{10}$-Jodlösung durch Multiplikation mit 0,0045 die Gewichtsmenge Milchsäure berechnet.

Ich teile die Resultate meiner Analysen (bei deren Durchführung mir Herr Dr. Charnaß freundlichst behilflich war) in tabellarischer Form mit:

---

[1]) Vgl. O. v. Fürth und D. Charnaß, l. c. S. 207 bis 210.

Eingeführte Milchsäuremenge g	Verbrauchte $^n/_{10}$-Jodlösung ccm	Gefundene Milchsäuremenge g	Prozente der eingeführten Menge
0,1235	21,4	0,0963	77,9
0,0907	12,1	0,0545	60,0
0,2542	37,1	0,1669	65,7
0,2727	61,5	0,2767	101,4
0,2727	62,6	0,2817	103,3
0,2758	39,3	0,1768	64,1
0,4131	73,6	0,3312	80,2
0,2222	38,6	0,1737	78,2
0,2776	54,9	0,2470	89,0
0,2776	53,7	0,2416	87,0
0,2776	53,5	0,2407	86,7
0,4500	92,8	0,4176	92,8
0,3916	74,6	0,3357	85,7
0,1566	28,7	0,1291	82,4
			Mittel: 82,4%

Eine weitere Serie von Versuchen, wobei bekannte (durch Titration mit Phenolphthalein als Indicator ermittelte) Milchsäuremengen normalem menschlichen Mischharn hinzugefügt und sodann, ohne vorherige Extraktion, nach Ryffel-Ripper bestimmt worden sind, ist mir von Herrn Prof. v. Fürth zur Verfügung gestellt worden:

Versuchsanordnung	Eingeführte Milchsäuremenge g	Verbrauchte $^n/_{10}$-Jodlösung ccm	Gefundene Milchsäuremenge g	Prozente der eingeführten Menge
40 ccm Harn + 40 ccm Milchsäure 0,8662% Zusatz von 90 ccm konz. H_2SO_4	0,3464	53,5	0,2408	69,5
do.	0,3464	71,3	0,3208	92,6
60 ccm Harn + 20 ccm Milchsäure 0,8662% Zusatz von 90 ccm konz. H_2SO_4	0,1732	29,5	0,1327	76,6
do.	0,1732	24,5	0,1102	63,6
do.	0,1732	29,7	0,1336	77,1
40 ccm Harn + 40 ccm Milchsäure 0,8662% Zusatz von 90 ccm konz. H_2SO_4	0,3464	75,4	0,3393	97,9
				Mittel: 79,7%

Auf Grund der mitgeteilten Erfahrungen möchten wir unser Urteil über die Leistungfähigkeit der Kombination des Ryffelschen Destillationsverfahrens mit dem Ripperschen Aldehydbestimmungsverfahren dahin zusammenfassen, daß dasselbe immerhin eine Schätzung der in einer wässerigen Lösung bzw. im Harne enthaltenen Milchsäuremenge gestattet, insofern dabei im Mittel etwa $^4/_5$ derselben zum Vorschein kommen. Als ein Nachteil des Verfahrens muß der Umstand bezeichnet werden, daß offenbar schon geringe Unregelmäßigkeiten bei der Ausführung der Destillation gröbere Versuchsfehler herbeiführen können. Doch scheint es, daß solche bei sehr sorgfältiger Handhabung der Methode vermieden werden dürften und es könnte vielleicht durch eine entsprechende Variation des Vorganges gelingen, annähernd richtige Resultate zu erzielen.

Als ein weiterer offenkundiger Nachteil erscheint die Tatsache, daß die Resultate desselben durch die Anwesenheit pathologischer Harnbestandteile erheblich und in schwer zu bemessender Weise gefälscht werden können. Bei zuckerreichen Harnen erscheint die Methode in ihrer gegenwärtigen Form schon deshalb unanwendbar, weil es unter der Einwirkung der Schwefelsäure und des Dampfstromes zu einer so ausgiebigen Gasentwicklung kommt, daß ein Überschäumen kaum vermieden werden kann.

Als Vorteil des Verfahrens muß seine schnelle Ausführbarkeit gelten. Es wird also dort mit Nutzen Anwendung finden können, wo es sich darum handelt, sich über die Armut oder den Reichtum eines Harnes an Milchsäure schnell zu orientieren. Auch wird es sich bei Anwendung unseres weiter unten zu beschreibenden Milchsäurebestimmungsverfahrens unter Umständen als vorteilhaft erweisen, demselben eine Ryffel-Ripper-Bestimmung vorauszuschicken, um sich so über den annähernden Milchsäuregehalt des zu untersuchenden Harnes zu orientieren und um dementsprechend die Menge der Harnprobe bei der definitiven Bestimmung zweckmäßig (weder zu groß, noch zu klein) wählen zu können.

II. Extraktion der Milchsäure aus wässerigen Lösungen.

Die Schwierigkeit, die Milchsäure ihren wässerigen Lösungen durch Äther zu entziehen, ist früher ganz bedeutend unter-

schätzt worden. Führten doch ältere Autoren ihre Milchsäurebestimmungen in der Regel derart aus, daß sie ihre Extrakte einfach einige Male im Scheidetrichter mit Äther ausschüttelten und sodann aus dem Ätherextrakte das schwerlösliche Zink- bzw. Lithiumsalz der Milchsäure darstellten und zur Wägung brachten.

Wie gänzlich ungenügend ein solcher Vorgang war, geht aus nachfolgenden Versuchen hervor:

a) 50 ccm einer Milchsäurelösung, einer Acidität (Phenolphthaleintitration) von 49,5 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH entsprechend, wurden mit Ammonsulfat in Substanz gesättigt und 3mal im Scheidetrichter mit 70 ccm Äther ausgeschüttelt. Die Titration der vereinigten Ätherextrakte ergab 28,8 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH = **58,1%**.

b) 30 ccm einer Milchsäurelösung vom Titer 39,45 ccm $^{n}/_{5}$-KOH wurden im Scheidetrichter mit Kochsalz in Substanz gesättigt und dann viermal mit je 50 ccm Äther ausgeschüttelt. Die Titration ergab im

Ätherextrakt	15,8 ccm $^{n}/_{5}$-KOH	= **40,0%**
in der wässerigen Schicht	22,6 „ „	= 57,3%
	38,4 ccm	97,3%

c) Eine Wiederholung des vorigen Versuchs ergab

in der Ätherschicht	15,8 ccm $^{n}/_{5}$-KOH	= **40,0%**
„ „ wässerigen Schicht	22,7 „ „	= 57,5%
		97,5%

d) 50 ccm einer Milchsäurelösung, einem Titer von 49,5 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH entsprechend, wurden im Jerusalemschen Extraktionsapparate[1]) 2 Stunden lang mit Äther extrahiert. Die Ausbeute betrug

1. 17,3 $^{n}/_{10}$-KOH = **34,9%**,
2. 16,0 „ = **32,3%**,

bei Extraktion aus einer mit Ammonsulfat gesättigten Lösung dagegen:

3. 34,0 $^{n}/_{10}$-KOH = **68,7%**.

Eine annähernd quantitative Extraktion der Milchsäure aus wässerigen Lösungen wird dagegen mit Hilfe des zu diesem Zwecke von Embden[1]) empfohlenen rotierenden Lindtschen Extraktionsapparates, der einen Wirbel kleinster Äthertröpfchen durch die Flüssigkeit treibt, bei ausreichend langer Versuchsdauer erzielt.

Ich teile meine in bezug auf diesen Gegenstand gesammelten Erfahrungen (wobei die extrahierte Milchsäuremenge titrimetrisch ermittelt wurde) im folgenden mit.

---

[1]) G. Embden, l. c.

a) Versuche mit 3stündiger Extraktionsdauer.

Angewandte Wassermenge	Angewandte Milchsäuremenge		Ausbeute an Milchsäure
50 ccm	1,292 g		84,77 %
25 „	1,292 g		88,50 %
50 „	0,3875 g		78,96 %
25 „	0,3875 g		96,61 %
50 „	0,1292 g		82,32 %
25 „	0,1292 g		90,65 %
		Mittel	85,30 %

b) Versuche mit 6stündiger Versuchsdauer.

Angewandte Wassermenge	Angewandte Milchsäuremenge		Ausbeute an Milchsäure
50 ccm	1,292 g		98,15 %
25 „	1,292 g		94,35 %
50 „	0,3875 g		93,35 %
25 „	0,3875 g		99,40 %
50 „	0,1292 g		97,66 %
25 „	0,1292 g		99,44 %
		Mittel	97,06 %

c) Extraktion aus stark verdünnter Lösung.

0,270 g Milchsäure in 350 ccm Wasser.

Extraktionsdauer	9 Stunden;	Ausbeute	77,3 %
„ weitere	3 „ ;	„	6,6 %
„ „	3 „ ;	„	5,3 %
			89,2 %

d) Extraktion von langer Dauer.

1,67 g Milchsäure in 50 ccm Flüssigkeit gelöst.

Ausbeute nach 3stündiger Extraktionsdauer	70,15 %
„ „ weiteren 3 Stunden	23,49 %
„ „ „ 3 „	3,23 %
„ „ „ 3 „	0,32 %
„ „ „ 3 „	0,11 %
„ „ „ 15 Stunden	97,30 %
In der wässerigen Lösung fand sich titrimetrisch ein Rest entsprechend . . .	1,68 %
	98,98 %

e) Extraktion einer kleinen Milchsäuremenge.

0,0165 g Milchsäure in 50 ccm Wasser. Nach 9stündiger Extraktion wurde im Rückstande des Ätherextraktes die Milchsäurebestimmung nach Fürth und Charnaß durchgeführt: 3,3 ccm $^n/_{10}$-Jod, d. i. $3,3 \times 0,0045 = 0,0148$ g Milchsäure $= 89,7\,\%$.

Man kann also darauf rechnen, durch eine 12stündige Extraktion jede praktisch hier in Betracht kommende Milch-

säuremenge einem nicht allzu großen Wasservolumen mit Hilfe des Lindtschen Apparates annähernd vollständig entziehen zu können.

III. Verfahren zur Bestimmung der Milchsäure im Harne.

a) Ausführung der Extraktion.

Es läge nahe, zu denken, daß die Milchsäure ohne weiteres aus dem durch Einengen gewonnenen und angesäuerten Harnsirup extrahiert werden könne. Tatsächlich ist dies aber nicht der Fall. Eine glatte Extraktion setzt vielmehr die vorherige Beseitigung gewisser Harnbestandteile voraus, da sonst eine Emulgierung stattfindet und eine scharfe Sonderung der Wasser- und Ätherschicht ausbleibt.

Schließlich hat sich uns für menschlichen Harn folgendes Verfahren als zweckmäßig erwiesen:

250 ccm des Harnes, in dem der Milchsäuregehalt ermittelt werden soll, werden mit 250 ccm 20⁰/₀iger Phosphorwolframsäure (Kahlbaum) gefällt. Nach dem Absetzen wird der Niederschlag mit einem Nutschfilter abgetrennt, scharf abgesogen und mit phosphorwolframsäurehaltigem Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wird nunmehr mit 500 ccm gesättigten Barytwassers gefällt, ein etwaiger Barytüberschuß durch Einleiten von Kohlensäure beseitigt, der voluminöse Niederschlag auf einem Nutschfilter scharf abgesogen, gewaschen, sodann in einer Reibschale neuerlich mit Wasser verrieben, wieder auf das Filter gebracht und das Filtrat gemeinsam mit den Waschwässern in einer geräumigen Schale am Wasserbade eingedampft, wobei man es besser vermeidet, den Rückstand scharf eintrocknen zu lassen. Der letztere wird nunmehr unter Zusatz von 50 ccm 20⁰/₀iger Phosphorsäure quantitativ in den Lindtschen Extraktionsapparat übertragen. Es geschieht dies am zweckmäßigsten derart, daß man ein bohnengroßes Bäuschchen entfetteter Watte in eine Klemmpinzette oder eine Péansche Zange befestigt, den Rückstand in der Schale mit etwa 10 ccm der Phosphorsäurelösung bespült und nunmehr mit Hilfe des Bäuschchens von den Schalenwänden vollständig loslöst. Nunmehr wird die trübe Flüssigkeit vorsichtig in den Lindtschen Apparat übertragen und das Bäuschchen durch Öffnen der Pinzette gleichfalls in denselben fallen gelassen. Jetzt wird ein neues Watte-

bäuschchen eingeklemmt, wieder, nachdem 10 ccm der Phosphorsäure in die Schale gegossen worden sind, zum Auswischen der Schale benutzt und der Vorgang noch 2 bis 3 mal wiederholt. Es gelingt so leicht, den Schaleninhalt ohne Verluste in den Extraktionsapparat zu übertragen, ohne die Menge der sauren wässerigen Schicht über 50 ccm steigern zu müssen, was für die Vollständigkeit des nachfolgenden Extraktionsvorganges von Bedeutung ist. Nunmehr wird der Apparat zusammengesetzt, mit Äther beschickt und mit Hilfe eines Elektromotors und einer elektrisch geheizten Kochplatte in Betrieb gesetzt. Es hat sich als zweckmäßig erwiesen (s. u.), die Extraktion 24 Stunden lang im Gange zu erhalten. Im Laufe der ersten Stunden färbt sich der über der wässerigen Schicht stehende Äther gelblich; die später abfließenden Ätherportionen erscheinen dagegen farblos.

Nach vollendeter Extraktion ist der weitere Vorgang nun folgender: Zu dem ätherischen Extrakte im Kölbchen fügt man 10 ccm 10⁰/₀igen Ammoniak hinzu und verdampft den Äther auf einem elektrisch geheizten Wasserbade vollständig. Um auch dem Äther etwa beigemengte kleine Alkoholmengen vollständig zu beseitigen, wird nach Entfernung des Äthers das Erhitzen auf dem siedenden Wasserbade noch im Laufe einer Viertelstunde fortgesetzt.

Nunmehr wird der Inhalt des Kölbchens in den Kolben des Milchsäurebestimmungsapparates mit 1⁰/₀iger Schwefelsäure übergespült, 200 ccm 1⁰/₀ige Schwefelsäure und etwas Bimstein in Stücken hinzugefügt und die Milchsäurebestimmung nach dem Vorgange von Fürth und Charnaß[1]) durchgeführt.

b) Ausführung der Milchsäurebestimmung.

Die ursprüngliche Versuchsanordnung von Fürth und Charnaß wurde im wesentlichen beibehalten. Doch empfiehlt Prof. v. Fürth folgende Variationen als zweckmäßig: Der Destillationskolben wird größer gewählt, derart, daß er ca. 2 l fassen kann. Der mittels Kautschukstopfens aufgesetzte Tropftrichter, der zweckmäßigerweise mit einer Graduierung versehen wird, soll 200 ccm fassen. Das seitliche Ansatz-

[1]) Fürth und Charnaß, l. c. S. 210 bis 216.

rohr, das den Kolben mit dem Kühler verbindet, soll wesentlich weiter sein, als dies bei den in den Handel gelangenden Fraktionierkolben der Fall ist. Es unterliegt gar keinem Bedenken, alle Glasschliffe des ursprünglichen Apparates durch Kautschukstopfen zu ersetzen; der Apparat wird dadurch nicht nur wesentlich billiger, sondern auch viel bequemer in der Handhabung. Der zur Aufnahme des Destillats bestimmte Meßzylinder soll nicht, wie ursprünglich angegeben, 300 ccm, sondern 1 l fassen.

Als eine erhebliche Verbesserung des Milchsäurebestimmungsverfahrens ist der von Embden[1]) empfohlene und von seinen Schülern geübte Ersatz der zur Oxydation ursprünglich verwendeten $^{n}/_{10}$-Permanganatlösung durch eine wesentlich verdünntere. Dabei vermindern sich die Aldehydverluste derart, daß die von Fürth und Charnaß empfohlene Korrektur (Multiplikation der bei der Bestimmung nach Ripper verbrauchten Zahl Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$-Jodlösung, statt mit dem theoretischen Faktor 0,0045, mit 0,005), in Wegfall kommen kann.

Prof. v. Fürth stellt mir zum Belege dessen eine Anzahl von ihm unter Anwendung von $^{n}/_{50}$-$KMnO_4$ ausgeführter Probeanalysen mit reiner Milchsäure zur Verfügung, bei denen der theoretische Faktor 0,0045 den Berechnungen zugrunde gelegt worden ist.

Eingeführte Milchsäuremenge g	Verbrauchte $^{n}/_{10}$-Jodlösung ccm	Gefundene Milchsäure g	Gefundene Milchsäure Eingeführte Menge %
0,2227	47,5	0,2137	95,9
0,2227	50,4	0,2268	101,8
0,1485	33,4	0,1503	101,2
0,1485	31,2	0,1404	94,5
0,1485	33,2	0,1494	100,6
0,0742	15,0	0,0675	91,0
0,0742	16,9	0,0760	102,4
			Mittel 98,2

Als eine weitere Vereinfachung des Vorgangs wird ferner empfohlen, die Aufteilung des Destillats in abpipettierte Portionen zu unterlassen, vielmehr das Destillat in toto im Meßzylinder (nachdem der Kühler und die in die Vorlage ein-

[1]) G. Embden, l. c.

tauchenden Röhren herausgehoben und diese letzteren abgespült worden sind) mit einem Überschuß der Bisulfitlösung zu versetzen, worauf der Zylinder mit einem zu diesem Zwecke bestimmten eingeschliffenen Glasstöpsel verschlossen und umgeschüttelt wird.

IV. Analysenresultate.

A. Milchsäuregehalt des normalen menschlichen Harnes.

Harnmenge	Extraktionsdauer Std.	Verbrauchte Menge $^{n}/_{10}$-Jodlösung ccm	Gefundene Milchsäuremenge g		Beobachter
250 Mischharn I	9	5,8	0,0261	0,0247	Ishihara
250 „ I	9	5,2	0,0234		„
250 „ II	8	4,6	0,0207	0,0212	Fürth
250 „ II	16	3,7	0,0165		„
250 „ II	16	5,9	0,0265		„

Aus den bisher vorliegenden Beobachtungen ergibt sich sonach für den normalen menschlichen Mischharn ein Milchsäuregehalt von etwa 0,08 g pro Liter. Die Milchsäure stellt sonach einen ihrer Menge nach keineswegs zu vernachlässigenden normalen Bestandteil des menschlichen Harnes dar.

B. Analysen unter Zusatz bekannter Milchsäuremengen zu normalem Mischharn.

1. 250 ccm Mischharn mit 0,269 g Milchsäure (in Form von milchsaurem Lithium) versetzt. Vorgang wie oben. Dauer der Extraktion im Lindtschen Apparat 9 Stunden. Verbraucht: 49,6 ccm $^{n}/_{10}$-Jodlösung = (Faktor 0,0045) 0,2232 g Milchsäure.

Gefunden	0,2232 g Milchsäure
Ab präformierte Milchsäure	0,0247 g „
	0,1985 g Milchsäure = 73,8 %.

2. 250 ccm Mischharn I mit 0,388 g freier Milchsäure versetzt. Extraktionsdauer 9 Stunden.

Verbraucht 72,7 ccm $^{n}/_{10}$-Jod, entspr.	0,3272 g Milchsäure
Ab präformierte Milchsäure	0,0247 g „
	0,3025 g Milchsäure = 77,9 %.

Eine weitere Serie von Analysen ist von Prof. v. Fürth ausgeführt worden:

3. 250 ccm Mischharn II, versetzt mit 30 ccm Milchsäure 0,7425 % (Milchsäure Kahlbaum, Gehalt durch Titration mit Phenolphthalein als Indicator ermittelt) = 0,2227 g Milchsäure.

a) Extraktionsdauer 8 Std. aus 100 ccm Flüssigkeit im Lindt-App. Verbraucht 34,3 ccm $^{n}/_{10}$-Jod . . . . =	0,1543 g Milchsäure
b) Weitere Extraktionsdauer 8 Std. Verbraucht 16,7 ccm $^{n}/_{10}$-Jod . . . . =	0,0752 g "
	0,2295 g Milchsäure
Ab präformierte Milchsäure	0,0212 g "
Wiedergefunden	0,2083 g Milchsäure = 93,5 %.

4. Wiederholung von Analyse 3, mit 0,2227 g Milchsäure.

a) Extraktion 10 Std. aus 50 ccm Flüssigkeit im Lindt-App. Verbraucht 51,6 ccm $^{n}/_{10}$-Jod . . . . =	0,2222 g Milchsäure
b) Weitere Extraktion 8 Std. Verbraucht 2,1 ccm $^{n}/_{10}$-Jod . . . . =	0,0094 g "
c) Weitere Extraktion 6 Std. Verbraucht 0,1 ccm $^{n}/_{10}$-Jod . . . . =	0,0004 g "
Insgesamt 24 Std.	0,2320 g Milchsäure
Ab präformierte Milchsäure	0,0212 g "
Wiedergefunden	0,2108 g Milchsäure = 94,6 %.

5. Wiederholung mit 0,2227 g Milchsäure.

a) Extraktion 10 Std. aus 50 ccm Flüssigkeit. Verbraucht 46,8 ccm $^{n}/_{10}$-Jod =	0,2106 g Milchsäure
b) Weitere Extraktion 8 Std. Verbraucht 2,4 ccm $^{n}/_{10}$-Jod . . . . =	0,0108 g "
c) Weitere Extraktion 6 Std. Verbraucht 0,0 ccm $^{n}/_{10}$-Jod . . . . =	—
Insgesamt 24 Std.	0,2214 g Milchsäure
Ab präformierte Milchsäure	0,0212 g "
Wiedergefunden	0,2002 g Milchsäure = 89,9 %.

6. 250 ccm Mischharn II, versetzt mit 50 ccm 0,7425 % Milchsäure = 0,3712 g Milchsäure.

Extraktion 2mal 12 Std. aus 50 ccm Flüssigkeit. Verbraucht 75,6 ccm $^{n}/_{10}$-Jod . . . . =	0,3402 g Milchsäure
Ab präformierte Milchsäure	0,0212 g "
Wiedergefunden	0,3190 g Milchsäure = 85,9 %.

7. Wiederholung von 6, mit 0,3712 g Milchsäure.

a) Extraktion 12 Std. Verbraucht 64,0 ccm $^{n}/_{10}$-Jod . . . . =	0,2880 g Milchsäure
b) Weitere Extraktion 9 Std. Verbraucht 16,1 ccm $^{n}/_{10}$-Jod . . . . =	0,0725 g "
c) Weitere Extraktion 9 Std. Verbraucht 1,4 ccm $^{n}/_{10}$-Jod . . . . =	0,0063 g "
Insgesamt 30 Stunden	0,3668 g Milchsäure
Ab präformierte Milchsäure	0,0212 g "
Wiedergefunden	0,3456 g Milchsäure = 93,1 %.

8. 250 ccm Mischharn II, versetzt mit 20 ccm Milchsäure 0,8662 % = 0,1732 g Milchsäure.

a) Extraktion 10 Std. aus 50 ccm mit Ammonsulfat gesättigter Flüssigkeit.
Verbraucht 35,9 ccm n/10-Jod . . = 0,1616 g Milchsäure
b) Weitere Extraktion 9 Std. Verbraucht
7,0 ccm n/10-Jod . . . . = 0,0315 g "
0,1931 g Milchsäure
Ab präformierte Milchsäure . . . . . 0,0212 g "
Wiedergefunden . . . . 0,1719 g Milchsäure = 99,2 %.

9. Wiederholung von 8, jedoch mit der Abweichung, daß die zu extrahierende Flüssigkeit nicht mit Ammonsulfat gesättigt wurde.

a) Extraktion 20 Std. Verbraucht 37,2 ccm
n/10-Jod . . . . = 0,1674 g Milchsäure
b) Weitere Extraktion 9 Std. Verbraucht
1,8 ccm n/10-Jod . . . . = 0,0081 g "
0,1755 g Milchsäure
Ab präformierte Milchsäure . . . . . 0,0212 g "
Wiedergefunden . . . . 0,1543 g Milchsäure = 89,1 %.

10. 250 ccm Mischharn, versetzt mit 50 ccm Milchsäure 0,8662 % = 0,4331 g Milchsäure. Extraktion 22 Stunden. Extraktionsrückstand auf 200 ccm aufgefüllt und die Milchsäure in Portionen von je 50 ccm bestimmt.

a) Verbraucht 22,6 ccm n/10-Jod. 22,6 × 4
= 90,4 ccm n/10-Jod . . . . 0,4068 g Milchsäure
b) Verbraucht 23,5 ccm n/10-Jod. 23,5 × 4
= 94,0 ccm n/10-Jod . . . . 0,4230 g "
Mittel . . . . 0,4149 g Milchsäure
Ab präformierte Milchsäure . . . . . 0,0212 g "
Wiedergefunden . . . . 0,3937 g Milchsäure = 90,9 %.

Wir ersehen aus den mitgeteilten Versuchen, daß die Milchsäure sich dem sauren Harnsirup wesentlich schwerer entziehen läßt, als reinem Wasser; derart, daß man bei einer Extraktionsdauer von 9 Stunden (vgl. Versuch 1 und 2), die bei reinen Milchsäurelösungen zu einer quantitativen Extraktion genügt, hier noch namhafte Verluste erleidet.

Wird die Extraktion genügend lange fortgesetzt, so sind die Ausbeuten, wenn man die Umständlichkeit des Verfahrens und die Tatsache in Betracht zieht, daß die Milchsäure nicht als solche, vielmehr auf dem Wege eines Spaltungsproduktes indirekt bestimmt wird, als befriedigende zu bezeichnen:

Versuch 3	. . . .	93,5 %
" 4	. . . .	94,6 "
" 5	. . . .	89,9 "
" 6	. . . .	85,9 "
" 7	. . . .	93,1 "
" 8	. . . .	99,2 "
" 9	. . . .	89,1 "
" 10	. . . .	90,9 "
	Mittel	92,0 %

Die vorstehend mitgeteilte Methode dürfte sich also als geeignetes Mittel erweisen, um die physiologischen Bedingungen, unter denen ein Übertritt der Milchsäure in den Harn erfolgt, systematisch zu studieren.

Zusammenfassung.

1. Die Verteilungsbedingungen der Milchsäure zwischen einer wässerigen und ätherischen Schicht sind für einen Übergang derselben in den Äther derart ungünstig, daß die Bemühungen älterer Autoren, die Milchsäure des Harnes durch einfaches Ausschütteln im Scheidetrichter einer quantitativen Bestimmung zuzuführen, als gänzlich aussichtslos erscheinen.

2. Ein von Ryffel für eine direkte Bestimmung der Milchsäure im Harn angegebenes Verfahren, das darauf basiert, daß dieselbe durch Destillation mit 50 %iger Schwefelsäure in Acetaldehyd und Ameisensäure aufgespalten wird, kann in zweckmäßiger Weise derart modifiziert werden, daß der Aldehyd nicht colorimetrisch (nach der Rotfärbung einer mit schwefliger Säure gebleichten Rosanilinlösung), vielmehr jodometrisch (nach Ripper) bestimmt wird. Die wenig zeitraubende Kombination des Ryffelschen Destillationsverfahrens mit der Ripperschen Aldehydbestimmung gestattet immerhin eine annähernde Schätzung der im Harne enthaltenen Milchsäuremenge, insofern dabei im Mittel etwa $^4/_5$ der vorhandenen Milchsäure zum Vorschein kommen. Für zuckerhaltige Harne ist das Verfahren aber nicht anwendbar.

3. Die exakte Bestimmung der im Harne enthaltenen Milchsäure setzt die Extraktion derselben mit Äther voraus. Dieselbe wird zweckmäßigerweise derart ausgeführt,

daß der Harn zunächst mit Phosphorwolframsäure gefällt, diese mit Baryt und der Barytüberschuß mit Kohlensäure beseitigt wird. Dem sodann beim Eindampfen gewonnenen, mit Phosphorsäure angesäuerten Harnsirup kann die Milchsäure durch 24stündige Ätherextraktion mit Hilfe des Lindtschen rotierenden Extraktionsapparates annähernd vollständig entzogen werden.

4. Die Bestimmung der Milchsäure im ätherischen Extrakte erfolgt nach der Methode von Fürth und Charnaß, die durch einige Abänderungen vereinfacht und verbessert wird. Der von Embden empfohlene Ersatz der zur Oxydation dienenden $^{n}/_{10}$-Permanganatlösung durch eine wesentlich verdünntere erweist sich als zweckmäßig und führt zu so befriedigenden Ausbeuten (bei Probeanalysen mit reiner Milchsäure 96 bis 102, im Mittel 98 $^{0}/_{0}$), daß eine Korrektur als überflüssig entfällt.

5. Die Milchsäure ist ein keineswegs zu vernachlässigender Bestandteil des normalen Harnes, und zwar wurde in menschlichem Mischharn im Mittel 0,08 g davon im Liter nachgewiesen.

6. Mit unserem Verfahren ausgeführte Analysen unter Zusatz bekannter Milchsäuremengen zu normalem Harne ergaben (unter Anrechnung der im Harne enthaltenen Milchsäuremenge) eine Ausbeute von 89 bis 99, im Mittel 92 $^{0}/_{0}$.

Über die Wirkung der Antiseptica auf Toxine.

Von

E. Salkowski.

(Eingegangen am 4. April 1913.)

In einer in der Berl. klin. Wochenschr. 1898 erschienenen Arbeit habe ich nachgewiesen, daß Diphtherietoxin durch 2tägige Digestion mit Leber unter Zusatz eines Antisepticums — meistens wurde Salicylaldehyd als Antisepticum gewählt — bei Körpertemperatur zerstört bzw. abgeschwächt wird. Die weiteren Versuche ergaben, daß diese Wirkung nicht von der Leber abhängt, sondern von dem Antisepticum, denn die Zerstörung trat ebenso ein, wenn das Diphtherietoxin mit Salicylaldehyd, Carbolsäure oder Formalin allein ohne Leber bei 39 bis 40° digeriert wurde (dagegen nicht bei Zimmertemperatur), während die Digestion mit Wasser allein wirkungslos blieb.

Es wurde noch besonders konstatiert, daß es sich bei dem Vorgang nicht etwa um eine mechanische Wirkung des schwerlöslichen Salicylaldehyds, eine Art Niederreißen des Diphtherietoxins handelt. Eine Antitoxinbildung findet bei der Digestion mit Leberbei nicht statt. Ich habe dies l. c. erwähnt, weil ich die Versuche ursprünglich in der Idee angestellt habe, daß es vielleicht möglich sein möchte, bei der Herstellung von Heilserum den lebenden Organismus auszuschalten und ihn durch ein Organ zu ersetzen. Das ist, wie gesagt, nicht der Fall.

An diese etwa 15 Jahre zurückliegenden Versuche wurde ich durch die Arbeit von Bertolini, dem meine Mitteilungen offenbar entgangen sind: „Über die das Diphtherietoxin entgiftende Wirkung der autolysierenden Leber“ in Bd. 48 S. 448 dieser Zeitschrift erinnert. Bertolini hat zunächst gleichfalls durch zahlreiche Versuche festgestellt, daß Diphtherietoxin durch

Digestion mit Leber unter Toluolzusatz entgiftet wird, weiterhin durch verschiedene Versuchsanordnungen, den bei dieser Zerstörung wirksamen Faktor zu eruieren gesucht und ist zu dem Resultat gekommen, daß es die bei der Autolyse sich bildende Säure, speziell Milchsäure ist, die das Diphtherietoxin zerstört. Er fand u. a., daß auch Milchsäure allein ungefähr in der Konzentration, wie sie sich aus der Leber bildet, die gleiche zerstörende Wirkung hat, sowie weiterhin, daß das Diphtherietoxin unangegriffen bleibt, wenn man durch wiederholten Alkalizusatz dafür sorgt, daß die Mischung von Leber und Diphtherietoxin bei der Digestion neutrale Reaktion behält. Versuche mit antiseptischen Mitteln allein, ohne Organzusatz, hat Bertolini nicht angestellt.

Der Befund von Bertolini in den dauernd bei neutraler Reaktion erhaltenen Mischungen steht in einem gewissen Widersatz mit meinen Beobachtungen über die Wirksamkeit der Antiseptica allein, ohne Leber, denn auch bei seinen Versuchen mit fortdauernder Neutralisierung hätte die zerstörende Wirkung des Antisepticums in die Erscheinung treten müssen. Es fragt sich nun, ob vielleicht auch in meinen Versuchen mit Antisepticis allein die Wirkung auf gebildeter Säure beruht oder — was auch denkbar ist — auf die Summation von Säure und Antisepticum zu beziehen ist. Für den Salicylaldehyd wird man diese Möglichkeit — Bildung von Salicylsäure — zugeben müssen, vielleicht auch für das Formalin — Bildung von Ameisensäure —, nicht aber für das Phenol. Aus diesem kann sich keine Säure bilden, und das Phenol selbst ist keine Säure, wenn es auch Carbolsäure genannt wird. Für das Phenol kommt nun vielleicht ein anderes Moment in Betracht. Bertolini hat als Antisepticum Toluol angewendet, mit dem ich keine Versuche gemacht habe; es ist wohl denkbar, daß dieses auf das Diphtherietoxin nicht zerstörend wirkt.

Von jeher hat man die Toxine mit den Fermenten verglichen, nicht ohne Grund. Von den Fermenten, gewissermaßen „Protoplasmasplittern“, wissen wir, daß sie, wenn auch lange nicht so stark wie das Protoplasma selbst, in ihrer Wirkung durch Antiseptica beeinflußt werden, aber durchaus nicht durch alle in demselben Grade, am wenigsten wohl durch Toluol, weit stärker durch Chloroform und Carbolsäure. Die Sachlage mag

für die Bakterientoxine ähnlich sein. So würde sich vielleicht die Differenz zwischen dem Toluolversuch von Bertolini und meinem Phenolversuch erklären.

Mir liegt augenblicklich der Gegenstand zu fern, um neue Versuche zur Aufklärung der Differenz anzustellen, vielleicht aber sieht sich Bertolini, da der Gegenstand zwar kein praktisches, aber doch ein recht erhebliches theoretisches Interesse bietet, veranlaßt, nunmehr die Wirkung der Antiseptica allein zu untersuchen und seinen Versuch mit fortdauernder Neutralisierung zu wiederholen, jedoch statt Toluol die von mir gebrauchten Antiseptica anzuwenden. Vielleicht wäre es dabei auch zweckmäßig, den Mischungen von vornherein eine Substanz hinzuzusetzen, die, an sich neutral, saure Reaktion nicht aufkommen läßt. Als solche empfiehlt sich frisch gefälltes und gut ausgewaschenes Calciumcarbonat. Die Mischung könnte dann höchstens durch Kohlensäure sauer werden. Natürlich ist dabei zeitweises Schütteln erforderlich.

Zur Kenntnis emulsinartiger Enzyme.

Von

L. Rosenthaler.

(Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Straßburg i. E.)

(Eingegangen am 16. April 1913.)

In meinen früheren Mitteilungen über Emulsin[1]) hatte ich gefunden, daß δ-Emulsin nicht mit σ-Emulsin identisch ist, und daß auch die Emulsinbestandteile, die Oxynitrile spalten und synthetisieren, voneinander verschieden sind. Diese Behauptungen scheinen nicht allgemein Anerkennung gefunden zu haben. Ich schließe dies u. a. aus dem Referat von E. Zunz in Abderhaldens biochem. Handlexikon[2]), wo es heißt: „Der die Synthese beeinflussende Anteil soll nicht mit dem hydrolysierenden identisch sein.“ Da außerdem durch einen Vorschlag von Euler[3]) eine Änderung in der Benennung einzelner Emulsinbestandteile eingetreten ist, so scheint es mir geboten, die ganze Frage nach der Identität oder Verschiedenheit der enzymatisch wirksamen Bestandteile des Emulsins, wenigstens insoweit sie mein eigenes Arbeitsgebiet betreffen, unter Beibringung neuen Materials zusammenhängend zu behandeln.

Die Reaktionen, um die es sich bei diesen Wirkungen des Emulsins handelt, sind folgende:

I. Die Bildung optisch-aktiver Oxynitrile aus Aldehyden und Blausäure (asymmetrische Synthese).

Der Emulsinanteil, der diese Reaktion bewirkt, war von mir zunächst als σ-Emulsin bezeichnet worden. Er ist jetzt in Anlehnung an den Vorschlag von Euler als d-Oxynitrilese

[1]) Diese Zeitschr. **14**, 238, 1908; **17**, 257, 1909; **26**, 1, 1909; **26**, 7, 1910; **28**, 408, 1910.

[2]) **5**, 568.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **74**, 13, 1911.

zu bezeichnen. Das Vorzeichen d wird beigefügt, weil die Reaktion mit Benzaldehyd, mit dem sie zuerst studiert wurde, zu d-Benzaldehydcyanhydrin führt.

II. Die Spaltung des Amygdalins. Sie verläuft, wie als sicher gelten darf, in drei Stadien, nämlich:

1. Hydrolyse des Amygdalins zu Mandelnitrilglucosid und Glucose unter Einwirkung von Amygdalase.

2. Hydrolyse des Mandelnitrilglucosids zu d-Benzaldehydcyanhydrin und Glucose unter Einwirkung von Prunase[1]).

3. Dissoziation des d-Benzaldehydcyanhydrins in Benzaldehyd und Blausäure unter Einwirkung der d-Oxynitrilase.

Den Emulsinanteil, der Amygdalin soweit spaltet, daß Blausäure im Destillat nachweisbar ist[2]), d. h. nach jetziger Bezeichnungsweise Amygdalase + Prunase, hatte ich als δ-Emulsin bezeichnet, und von diesem hatte ich gefunden, daß es nicht mit σ-Emulsin, der heutigen d-Oxynitrilese, identisch ist.

Dafür sprach folgendes:

1. Ein Präparat, das längere Zeit auf 40 bis 45° erhitzt wurde, bildete bei der Synthese noch optisch-aktives Nitril, spaltete aber Amygdalin nicht.

2. Ein Präparat, das durch Versetzen mit Säure und nachfolgender Neutralisation mit Alkali gewonnen war, verhielt sich ebenso.

3. Die bei Fällungen mit Kupfersulfat, bei Ganzsättigung mit Magnesiumsulfat, bei Halbsättigung mit Ammonsulfat erhaltenen Filtrate spalteten nur Amygdalin, zeigten aber die synthetisierende Wirkung nicht.

Ich habe zunächst die unter 2. und 3. berichteten Tatsachen mit Emulsinen von Merck und Schuchardt nachgeprüft. Dabei habe ich die früheren Ergebnisse mit Ammonsulfat nicht wieder erhalten. Das Filtrat zeigte starke synthetisierende und amygdalinspaltende Wirkung (Versuch 1)[3]). Worauf diese Unstimmigkeit zurückzuführen ist, kann heute nicht mehr ermittelt werden. Vermutlich handelte es sich bei dem früheren Ergebnis um eine

---

[1]) H. E. Armstrong, E. F. Armstrong und E. Horton, Proc. Roy. Soc., Serie B, 85, 359 und 363; Chem. Centralbl. 1912, II, 1292.

[2]) Benzaldehydcyanhydrin dissoziiert bei der Destillation.

[3]) Bei der Nitrilspaltung wurden dagegen nur Spuren von aktivem Nitril erhalten.

Inaktivierung durch Säurewirkung, da auch das jetzt verwendete Ammonsulfat, wie sich nachträglich zeigte, schwach sauer reagierte.

Die bei der Nachprüfung des Magnesiumsulfatversuches erhaltenen Ergebnisse stimmten mit den früheren wenn auch nicht ganz streng, so doch befriedigend überein. Das Filtrat enthielt nur noch Spuren der Oxynitrilese, während die amygdalinspaltende Wirkung nur um ca. $^1/_4$ zurückgegangen war (Versuch 2).

Völlig bestätigen ließ sich das erwähnte Verhalten des Emulsins gegen Kupfersulfat[1]). Das Filtrat spaltete Amygdalin, bildete aber keine Spur von aktivem Nitril (Versuch 3).

Auch das Verhalten eines mit Säure und dann mit Alkali behandelten Präparats war ebenso wie früher. Verwendet wurde ein früher dargestelltes, aus Emulsin Schuchardt bereitetes Präparat. Es spaltete Amygdalin nicht, besaß aber noch starke synthetisierende Wirkung (Versuch 4).

Was das Gewicht dieses letzten Versuches noch verstärkt, ist der Umstand, daß die Amygdalinspaltung zweifellos eine viel empfindlichere Reaktion darstellt als die Synthese. So war bei Verwendung eines Merckschen Emulsins die Spaltung des Amygdalins mit Hilfe der Berlinerblau-Reaktion noch nachweisbar, wenn 20 ccm einer Lösung 1:200000 oder 0,1 mg Emulsin 24 Stunden bei 30° auf 1 g Amygdalin einwirkten. Zieht man die Rhodanreaktion heran und läßt länger einwirken, so lassen sich noch kleinere Mengen nachweisen. Die Empfindlichkeitsgrenze desselben Präparats für die synthetische Reaktion lag bei 5 mg. Damit entstand in $2^1/_2$ stündiger Einwirkung auf 0,3375 g Blausäure und 5,3 g Benzaldehyd ein Nitril, das nach der Verseifung eine Flüssigkeit mit der Drehung — 0,15° lieferte. Mit 2,5 mg Emulsin war unter denselben Verhältnissen optische Aktivität nicht mehr zu erkennen, auch nicht bei 6 stündiger Dauer des Versuches.

Zu diesen Tatsachen treten noch andere, über die ich an anderem Orte[2]) ausführlich berichtet habe: Die Enzympräparate der Samen von Hydnocarpus Wightiana und Pangium edule ent-

[1]) Darauf, daß es sich dabei wahrscheinlich nur um eine H-Ionen-Wirkung handelt, wurde bereits früher aufmerksam gemacht.

[2]) Arch. d. Pharmazie 251, 56, 1913.

halten Oxynitrilese, spalten aber Amygdalin nicht, und auch die quantitative Verfolgung der beiden in Rede stehenden Reaktionen mit mehreren Enzympräparaten aus Prunaceen-Samen zeigt, daß ein Parallelismus zwischen beiden Reaktionen nicht besteht.

Alle diese Tatsachen beweisen, daß die Oxynitrilese mit dem δ-Emulsin (= Amygdalase + Prunase)[1]) nicht identisch ist. Dazu mag bemerkt werden, daß die Reaktionen, die durch diese Emulsinanteile bewirkt werden, nicht im Verhältnis der Umkehrbarkeit stehen, daß demnach auch irgendeine Notwendigkeit für ihre Identität nicht vorliegt.

Dagegen handelt es sich um eine umkehrbare Reaktion bei dem Reaktionspaar Oxynitrilspaltung-Oxynitrilsynthese. Und hier ist deshalb auch die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß beide Reaktionen unter dem Einfluß desselben Enzyms verlaufen.

Gegen die Identität dieser Enzyme, der Oxynitrilase und der Oxynitrilese sprach bis jetzt aber schon der früher[2]) erhaltene Befund, daß man durch Behandlung mit Säure und nachfolgende Neutralisation mit Alkali ein Präparat erhalten kann, das nur noch die oxynitrilspaltende (Oxynitrilase-)Wirkung[3]), aber nicht mehr die synthetisierende (Oxynitrilese-)Wirkung zeigt. Auch bei diesen Versuchen wäre es von Wichtigkeit zu wissen, welche Reaktion die empfindlichere ist. Genaues läßt sich darüber freilich nicht sagen, da, wenn die beiden Enzyme verschieden sind, über ihre jeweilige Menge nichts bekannt ist. Immerhin habe ich beim Merckschen Emulsin die Empfindlichkeit bestimmt und gefunden, daß die Grenze bei 0,025 g liegt. Damit und mit 2,5 g i-Benzaldehydcyanhydrin, 5 g Weingeist und 50 g Wasser wurde nach 12stündiger Einwirkung ein Nitril erhalten, das nach der Verseifung eine Flüssigkeit mit der Drehung

---

[1]) Es mag noch darauf aufmerksam gemacht werden, daß Blausäure in den bei der Amygdalinspaltung erhaltenen Destillaten nicht auftreten kann, wenn eine der Komponenten des δ-Emulsins ohne die andere vorhanden ist.

[2]) Diese Zeitschr. 28, 408, 1910.

[3]) Unter dieser Wirkung sei der positive Ausfall der Feistschen Nitrilspaltung verstanden, wobei aus inaktivem Oxynitril unter der Einwirkung von Emulsin bei Durchleiten von Luft aktives Oxynitril entsteht, und zwar aus i-Benzaldehydcyanhydrin die l-Form.

+ 0,05° ergab. Eine Verdoppelung der Nitril- und Weingeistmenge und 24stündige Einwirkung ergab keine stärkere Drehung.

Um weiteres Material zur Entscheidung dieser Frage herbeizuschaffen, habe ich eine Reihe von Versuchen von folgendem Gesichtspunkt aus angestellt. Schon in den ersten Versuchen über die synthetisierende Wirkung des Emulsins hatte ich festgestellt, daß die optische Aktivität einen Höhepunkt erreicht und dann allmählich zurückgeht. Dieser Rückgang wurde der Wirkung der umgekehrten Reaktion, also dem Zerfall des d-Benzaldehydcyanhydrins in Benzaldehyd und Blausäure, zugeschrieben. Werden nun beide Wirkungen durch ein und dasselbe Enzym herbeigeführt, so muß die den Gang der Reaktion wiedergebende Kurve für verschiedene Präparate dieselbe Form zeigen. Dabei muß allerdings vorausgesetzt werden, daß keinerlei Umstände (Koenzyme u. dgl.) vorhanden sind, die beide Reaktionen in verschiedener Weise beeinflussen. Da nur verhältnismäßig wenige Punkte bestimmt wurden, so sei das Ergebnis der Versuche[1]) in Tabellenform wiedergegeben. Die letzte Rubrik der Tabelle zeigt die Resultate der Nitrilspaltung.

Bezeichnung des Präparates	Synthetischer Versuch: Drehung des d-Benzaldehydcyanhydrins nach				Nitrilspaltung: Drehung des l-Benzaldehydcyanhydrins
	$2^1/_2$ Std.	5 Std.	12 Std.	24 Std.	
Emulsin Merck	+ 5,10°	+ 5,08°	+ 4,80°	—	— 1,18°
„ Schuchardt . .	+ 3,29°	+ 3,45°	+ 3,37°	—	— 0,40°
Enzympräparat aus:					
bitteren Mandeln . . .	+ 3,82°	+ 4,42°	+ 4,04°	—	— 0,15°
Äpfelkernen	+ 4,96°	+ 5,24°	+ 4,66°	—	—
Kirschkernen	+ 5,08°	+ 5,14°	+ 4,88°	—	— 0,95°
Aprikosenkernen . . .	+ 0,69°	+ 0,67°	+ 0,63°	—	0¹)
süßen Aprikosenkernen .	+ 5,40°	+ 5,32°	+ 4,78°	—	— 0,15°
Pfirsichkernen	+ 4,47°	+ 4,44°	+ 4,27°	—	Spuren²)
Zwetschgenkernen . . .	+ 1,38°	+ 1,42°	+ 1,96°	+ 1,47°	Spuren³)
Holzbirnenkernen . . .	+ 3,06°	+ 2,90°	+ 2,82°	—	— 0,65°

¹) Negativ auch nach der Verseifung. — ²) Nach der Verseifung + 0,5°. — ³) Nach der Verseifung + 0,16°.

[1]) Die beobachteten Drehungen sind zum Teil erheblich höher als die mit denselben Präparaten früher erhaltenen. Es hängt dies, wie sich gezeigt hat, in erster Linie mit der Beschaffenheit der Blausäure und des Benzaldehyds zusammen. Beide müssen möglichst frisch destilliert verwendet werden, wenn gute Resultate erzielt werden sollen.

Ist nämlich der Rückgang der Aktivität auf Nitrilspaltung zurückzuführen, so war es möglich, daß zwischen dieser Erscheinung und den Ergebnissen der Nitrilspaltung Parallelismus bestand.

Die Tabelle zeigt, daß der Gang der Reaktion bei den verschiedenen Präparaten ein recht verschiedener sein kann. Während z. B. bei dem Emulsin Schuchardt die Abnahme der Aktivität relativ gering ist, ist sie bei anderen Präparaten mehr oder minder bedeutend; während bei manchen Präparaten der Höhepunkt der Aktivität schon nach $2^1/_2$ Stunden erreicht ist, trifft dies bei anderen erst für 5, bei dem Präparat aus Zwetschgenkernen erst für 12 Stunden zu.

Berechnet man als Maß des Rückgangs den Quotienten $\frac{\alpha^5 - \alpha^{12}}{\alpha^5}$, in dem α^5 und α^{12} die nach 5 bzw. 12 Stunden erreichte Drehung bedeuten, so erhält man für die Enzyme, bei denen der Höhepunkt nach 5 Stunden erreicht ist, folgende, deutlich verschiedenen Werte:

Emulsin Schuchardt	0,023
Enzympräparat aus bitteren Mandeln . . .	0,086
„ „ Äpfelkernen	0,11
„ „ Kirschkernen	0,050

Aus den Ergebnissen der letzten Rubrik der Tabelle lassen sich bestimmte Schlüsse nicht ziehen.

Des weiteren schien es mir für die Aufklärung dieser Verhältnisse von Interesse zu untersuchen, inwieweit die die Nitrilsynthese und -spaltung beeinflussenden Enzyme durch die bei den Reaktionen in Betracht kommenden Körper, nämlich Benzaldehyd, Blausäure und Benzaldehydcyanhydrin, beeinflußt werden. In dieser Richtung liegen nur für die Nitrilsynthese einige Angaben vor. Ich hatte früher[1]) festgestellt, daß Benzaldehyd das synthetisierende Enzym bei längerer Einwirkung schädigt, während es durch Blausäure auch bei längerem Zusammensein kaum inaktiviert wird[2]).

[1]) Diese Zeitschr. **14**, 244, 1908.

[2]) Die Blausäure, wenigstens in der Form, in der sie sich in den Präparaten befindet (vgl. dazu das Folgende), ist also in diesem Falle, entgegen der allgemeinen Ansicht, kein Enzymgift.

Ich habe jetzt zunächst die Einwirkung des Benzaldehydcyanhydrins auf Emulsin untersucht und festgestellt, daß es nach verhältnismäßig kurzer Zeit (Versuchsdauer 2 Stunden) das Emulsin bereits so geschädigt hat, daß danach die Synthese und die Spaltung des Nitrils negativ verlaufen (5a bis 5c).

Dies Resultat ist ziemlich auffällig, und zwar aus mehreren Gründen. U. a. ist ja bei der Nitrilspaltung das Benzaldehydcyanhydrin von Anfang an vorhanden, und trotzdem entsteht optisch-aktives Nitril, und obgleich bei der Nitrilsynthese Benzaldehydcyanhydrin entsteht, läßt sich das Emulsin, das zum Versuche gedient hat, noch häufig mit positivem Ergebnis zu weiteren synthetischen Versuchen verwenden. Deshalb war daran zu denken, daß es sich dabei gar nicht um die Wirkung des Benzaldehydcyanhydrins selbst handelt, sondern daß dieses zunächst aufgespalten wird, und daß den Spaltungsprodukten, also Benzaldehyd und Blausäure, die inaktivierende Wirkung zukommt. Nun trifft dies aber, wie schon oben angegeben, für die synthetisierende Wirkung nicht zu, und ich habe mich von neuem überzeugt, daß sowohl Benzaldehyd als Blausäure die Wirksamkeit der in Betracht kommenden Emulsinanteile innerhalb 2 Stunden nicht aufheben. Das nitrilspaltende Enzym wird zwar, wie es scheint, durch Blausäure und Benzaldehyd geschädigt, aber durchaus nicht völlig inaktiviert (6b und 7b); die Oxynitrilese bleibt aber völlig intakt (6a und 7a). Dann kommt aber wohl nur das Eine noch in Betracht, daß die Spaltungsprodukte (oder nur eines von ihnen, wahrscheinlich die Blausäure) nur in statu nascendi wirken. Dafür spricht folgender Versuch (8): Fügt man gleichzeitig mit dem Benzaldehydcyanhydrin Benzaldehyd hinzu, um der Aufspaltung entgegenzuwirken, so tritt eine Schädigung des synthetisierenden Enzyms nicht ein, und auch die Oxynitrilase wird in weitgehendem Maße geschützt. Nimmt man an, daß es hauptsächlich die Blausäure in statu nascendi ist, die die Enzymschädigungen bewirkt, so ist leicht zu erklären, warum in den beiden obenerwähnten Fällen der Nitrilspaltung und der Nitrilsynthese eine Inaktivierung des Enzyms nicht eintritt. Im ersten Falle wird die entstehende Blausäure von Anfang an durch einen Luftstrom weggeführt, jedenfalls in weit höherem Maße als der Benzaldehyd; letzterer ist deswegen rasch im

Überschuß vorhanden und schützt dann wie oben das Enzym, wohl weil die Blausäure in statu nascendi sich rascher mit dem Benzaldehyd verbindet als mit dem betreffenden Emulsinanteil. Bei der Nitrilsynthese trifft die etwa durch Aufspaltung wieder freiwerdende Blausäure stets auf überschüssigen Benzaldehyd auch bei ursprünglich äquimolekularen Mengen, da die Reaktion nicht zu Ende geht. Mit dem dadurch eintretenden Enzymschutz, d. h. dadurch, daß der Benzaldehyd gewissermaßen die in statu nascendi auftretende Blausäure abfängt, steht wohl auch die Tatsache in Zusammenhang, daß ein bei dem synthetischen Versuch von Anfang an zugegebener Überschuß von Benzaldehyd das Ergebnis, wie ich schon früher festgestellt habe, günstig beeinflußt. Daß dadurch die Aufspaltung überhaupt zurückgedrängt wird, ist natürlich außerdem von Einfluß.

Bemerkenswert ist dann noch, daß bei kürzerer Einwirkung des Benzaldehydcyanhydrins die Oxynitrilese rascher inaktiviert wurde als die Oxynitrilase (9 bis 10), was wiederum für eine Verschiedenheit dieser beiden Emulsinanteile spricht. Dafür kommen außerdem noch folgende Tatsachen in Betracht:

1. In vielen Umbelliferen-Früchten kommt nur die Oxynitrilase und nicht die Oxynitrilese vor[1]).

2. Einzelne Emulsinpräparate bilden bei der Amygdalinspaltung l-Benzaldehydcyanhydrin, im Gegensatz zur Mehrzahl der Präparate, die d-Benzaldehydcyanhydrin ergibt.[2])

3. Der oben erörtete verschiedene Gang der Reaktion beim synthetischen Versuch.

4. Die künstliche Herstellung eines Präparates, das nur noch die Oxynitrilese-Wirkung zeigt.[3])

Als Hauptergebnis dieser Untersuchung kann demnach folgendes festgestellt werden:

I. Die Oxynitrilese (das die Oxynitrilsynthese beeinflussende Enzym) ist nicht identisch mit dem δ-Emulsin.

---

[1]) Arch. d. Pharmazie **251**, 56, 1913.

[2]) Ebenda **251**, 85, 1913.

[3]) Siehe oben u. diese Zeitschr. **28**, 408, 1910. Eine ungleiche Inaktivierungsgeschwindigkeit der beiden Enzyme wurde auch noch in anderen Fällen beobachtet.

II. Alle Tatsachen sprechen dafür, daß die Oxynitrilese und die Oxynitrilase (das die Oxynitrilspaltung beeinflussende Enzym) gleichfalls nicht identisch sind.

Dabei muß allerdings noch die Möglichkeit ins Auge gefaßt werden, daß alle Wirkungen des Emulsins von einem großen Molekül mit mehreren Seitengruppen ausgehen, und daß einzelne dieser Seitengruppen inaktiviert werden können, ohne daß die anderen ihre Wirksamkeit einbüßen.

Experimentelles.

Zu den synthetischen Versuchen wurden, soweit nichts anderes bemerkt, stets 0,5 g Enzympräparat, 0,675 g Blausäure, 10,6 g Benzaldehyd und Wasser zu 80 ccm verwendet. Ausführung wie früher[1]) angegeben.

Die Nitrilspaltung wurde in der von K. Feist angegebenen Weise[2]) ausgeführt.

Synthetischer Versuch mit Merckschem Emulsin: Drehung des d-Benzaldehydcyanhydrins (nach $2\,^1/_2$ Stunden) $= + 5{,}10^0$.

Nitrilspaltung mit 1 g Merckschem Emulsin und 5 g i-Benzaldehydcyanhydrin: Drehung des l-Benzaldehydcyanhydrins (nach 24 Stunden) $= - 1{,}18^0$.

Die bei der Amygdalinspaltung gebildete Blausäure wurde nach dem Verfahren von Denigès bestimmt.

1. Die Lösung von 1 g Emulsin Merck in 50 g Wasser wurde mit 50 g gesättigter Ammonsulfatlösung vermischt. 50 g des Filtrats ergeben im synthetischen Versuch ein Nitril mit der Drehung $+ 4{,}80^0$. 25 g Filtrat spalteten von 2,5 g Amygdalin in $2\,^1/_2$ Stunden bei 25^0 2,3506 g (Verbrauch an $^n/_{10}$-Silberlösung 23 ccm).

2. Die Lösung von 1 g Emulsin in 50 g Wasser wurde mit Magnesiumsulfat gesättigt. Der synthetische Versuch mit 22,5 g Filtrat ergab ein Nitril ohne erkennbare Drehung. Die nach der Verseifung erhaltene Mandelsäure drehte $0{,}5^0$ nach links. 15 g des Filtrats wurden wie in 1. zur Amygdalinspaltung verwendet. Verbrauch an $^n/_{10}$-Silbernitrat $= 16{,}1$ ccm $= 1{,}6544$ g Amygdalin. Der Kontrollversuch mit der entsprechenden Menge

[1]) Diese Zeitschr. **14**, 242, 1908.

[2]) Arch. d. Pharmazie **247**, 22, 1909.

Emulsin ergab die Zersetzung von 2,320 g Amygdalin (Verbrauch an $^n/_{10}$-Silbernitratlösung = 22,7 ccm).

3. Die Lösung von 1 g Emulsin Merck in 80 g Wasser wurde mit 10 g 10%iger Kupfersulfatlösung versetzt. Von dem nach 12 Stunden erhaltenen Filtrat wurden 22,5 g zum synthetischen Versuch verwendet. Das Nitril war inaktiv und ergab bei der Verseifung keine optisch-aktive Mandelsäure. 8,3 g des Filtrats spalteten noch reichlich Amygdalin. Bei der Titration wurden 6,8 ccm $^n/_{10}$-Silberlösung verbraucht, obgleich ein Teil der Blausäure durch überschüssiges Kupfer gebunden wurde.

4. 0,5 g des durch Behandlung mit Säure und nachfolgende Neutralisation mit Alkali erhaltenen Präparats ergaben beim synthetischen Versuch ein Nitril mit der Drehung + 0,82, weitere 0,5 g spalteten auch in 24 stündiger Einwirkung keine Spur von Amygdalin. (Bei der Nitrilspaltung mit 1 g wurden nur Spuren von l-Benzaldehydcyanhydrin erhalten. Drehung nach der Verseifung + 0,25°.)

5. a) Die Lösung von 0,5 g Emulsin Merck in 60 g Wasser wurde 2 Stunden mit 5 g Benzaldehycyanhydrin zusammengeschüttelt, dann nach Zusatz von 10 g Weingeist und 40 g Wasser zur Nitrilspaltung verwendet: Das Nitril ist optisch inaktiv.

b) Die mit Benzaldehydcyanhydrin wie in a) behandelte Lösung wird nach 2 Stunden mit Chloroform ausgeschüttelt und dann zur Synthese verwendet: Das Nitril ist optisch inaktiv.

c) Die zur Kontrolle noch mit einem Emulsin aus Kirschen in derselben Weise angestellten Versuche hatten dasselbe Ergebnis.

6. 1 g Emulsin Merck wurde mit 5 g Benzaldehyd und 100 g Wasser zusammengeschüttelt. Nach 2 Stunden wurde der Benzaldehyd mit Chloroform entfernt.

a) Die eine Hälfte der Lösung ergab im synthetischen Versuch ein Nitril mit der Drehung + 5,10°.

b) Die andere Hälfte ergab bei der Nitrilspaltung ein Nitril mit der Drehung — 0,60°.

7. 1 g Emulsin Merck wurde 2 Stunden der Lösung von 1,35 g Blausäure in 100 g Wasser ausgesetzt.

a) Die eine Hälfte der Lösung ergab mit 10,6 g Benzaldehyd im synthetischen Versuch ein Nitril mit der Drehung + 5,07°.

b) Aus der anderen Hälfte wurde die Blausäure durch freiwilliges Verdunsten entfernt; die dann mit der Lösung vorgenommene Nitrilspaltung lieferte ein Nitril mit der Drehung — 0,45°.

8. 1 g Emulsin Merck wurde in 80 g Wasser gelöst, mit 10,6 g Benzaldehyd und 5 g Benzaldehydcyanhydrin zusammengeschüttelt. Nach 2 Stunden wurde die Flüssigkeit mit Chloroform behandelt und dann zu den beiden Versuchen verwendet.

a) 20 g Lösung = 0,25 g Emulsin ergaben mit 0,3375 g Blausäure und 5,3 g Benzaldehyd im synthetischen Versuch ein Nitril mit der Drehung + 2,58°.[1])

b) 40 g Lösung ergaben in der Nitrilspaltung ein Nitril mit der Drehung — 0,25°.

c) Auch bei Versuchen mit Kirschenemulsin zeigte es sich ebenso, daß ein Zusatz von Benzaldehyd gegenüber der schädigenden Wirkung des Benzaldehydcyanhydrins schützt.

9. 0,5 g Kirschenemulsin werden mit 2,5 g Benzaldehydcyanhydrin eine Stunde geschüttelt; dann nach Zusatz von 10 g Weingeist und 2,5 g Benzaldehydcyanhydrin Nitrilspaltung. Drehung des Nitrils nicht sicher zu ermitteln; Drehung der durch Verseifung erhaltenen Mandelsäure: + 0,5°.

10. 0,5 g Kirschenemulsin werden mit 2,5 g Benzaldehydcyanhydrin wie in 9. behandelt. Nach einer Stunde wird das Nitril mit Chloroform entfernt und die Flüssigkeit zum synthetischen Versuch verwendet: Nitril nnd Mandelsäure sind inaktiv.

[1]) Bei einem anderen Versuch dieser Art wurde sogar ein beträchtlich höheres Resultat erzielt.

Untersuchungen über einige Veränderungen des Stoffwechsels bei Tieren nach Exstirpation der Schilddrüse und der Parathyroiden.

Von

Raffaele Paladino.

(Aus dem Chemisch-physiologischen Institut der Universität zu Neapel.)

(Eingegangen am 24. März 1913.)

Nach einer Vorarbeit[1]) über die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Blutserums und des Harns bei Tieren nach Schilddrüsen- und Parathyroidenentfernung gebe ich nunmehr Einzelheiten über den Phosphor-, Kalk- und Stickstoffwechsel solcher Tiere. Dieselben wurden während der Dauer des Experimentes unter den gleichen Lebens- und Ernährungsverhältnissen gehalten. Die nach der Exstirpation auftretenden Gesamterscheinungen sind ein Gemisch der bei Starrkrampf und Cachexia strumipriva beobachteten; sie wechseln sehr in ihrem Verlaufe, führen manchmal rapide zum Tode, in anderen Fällen hingegen bleibt das Tier noch längere Zeit nach der Exstirpation am Leben. Hand in Hand damit geht der Stoffwechsel.

1856 unternahm, wie bekannt, zuerst Schiff eine Reihe von Thyreoidektomien an Hunden und beobachtete dabei schon während der ersten Woche häufig einen tödlichen Ausgang. Erst Reverdin und Kocher stellten die auf die Operation folgenden Erscheinungen bei Ablösung der Schilddrüse beim Menschen fest. Spätere Versuche an operierten Tieren (Meerschweinchen) ergaben einen chronischen Zustand, der einige Monate dauern konnte und den Charakter des sog. Mixödems zeigte. Die schweren Symptome der Thyreoidektomie beim Menschen gaben Anlaß zu verschiedenen Streitfragen, bis im Jahre 1884 Schiff durch erneute Versuche an Hunden die große Bedeutung des Schilddrüsenapparates klarstellte. Viele andere Arbeiten auf diesem Gebiete folgten in Frankreich, Italien und Deutschland, die das Ergebnis zeitigten, daß bei Hunden

---

[1]) R. Paladino, Veränderung der physikalisch-chemischen Eigenschaften des Blutserums und des Harnes von Hunden nach Schilddrüsenexstirpation. Diese Zeitschr. 42, Heft 4, 18. Mai 1912.

die komplette Ablösung der beiden Teile der Schilddrüse gewöhnlich in einigen Tagen bis zu 1 Monat tödliche Folgen hat und die jetzt als Gesamterscheinungen der Cachexia strumipriva und des Tetanus bekannten Phänomene zeigt. Oft wurde bei den Tieren gleichzeitig eine Ausscheidung von Eiweiß und Zucker im Harn wahrgenommen. Viele Ansichten über die physiologische Bedeutung der Schilddrüse wurden geäußert; die des Prof. G. Paladino[1]) fand den meisten Anklang. Hiernach besteht der Hauptprozeß, der den Tod nach der Exstirpation bringt, in einer Autointoxikation, und in erster Linie in einer solchen der Nervenzentren. Die Arbeit der Schilddrüse besteht also in der Herstellung einer Substanz, die, ins Blut übergeführt, dazu dient, etwaige in den höheren Tieren produzierte Gifte zu zerstören. Auch Capobianco[2]) vertritt dieselbe Ansicht, die auch durch mikroskopische und chemische Befunde gestützt wird. In der Tat können die Erscheinungen, die sich nach der Unterdrückung der Schilddrüsenfunktion einstellen, sowohl ihrer Natur nach als auch hinsichtlich ihres Verlaufes nur erklärt werden durch eine Intoxikation der Nervenzentren durch Substanzen, die die Schilddrüse sonst neutralisiert. Für diese depurative Funktion ist nicht die ganze Schilddrüse notwendig, es genügt eine Hälfte oder ein Viertel derselben. Diese Theorie wurde auch durch die Versuche Luzios, Colzis, Vassales, Gleys u. a. verfochten. Einige, wie Laulamie, Maison, wiesen eine vermehrte Intoxikationsfähigkeit des Harns in den thyreoidektomierten Hunden nach. Andere, wie Gley und Baldi, bemerkten dabei eine Intoxikationsfähigkeit des Blutserums Dutto und Lo Monoco fanden außerdem eine verminderte Ausscheidung der stickstoffhaltigen Verbrauchsstoffe, die sich im Körper ansammeln. Vassale[3]), der der Schildkröte eine trophische und den Parathyreoiden eine antitoxische Funktion zuschrieb, versuchte nachzuweisen, daß nach Exstirpation der Schilddrüse Erscheinungen auftreten, die klar auf eine Verlangsamung und Verschlechterung des Stoffwechsels hindeuten.

---

[1]) G. Paladino, Gli effetti della tiroidectomia. Atti della R. Acad. med. chir. di Napoli 47, 1894. — G. Paladino, Albertoni e Tizzoni, Sugli effetti della estirpazione della tiroide. Arch. p. l. sc. med. 1886.

[2]) F. Capobianco, A proposito di albuminuria da paratiroidectomia. Estratto da Il Tommasi, giornale di biologia, med., chir., anno IV, Nr. 12, 1909; La Tiroidectomia nei mammiferi. Estratto della Riforma medica Nr. 97, Aprile 1895; La pneumonite da tiroidectomia e quella da recisione del vago nei conigli. Riforma med. 1893; Ricerche micros. sperim. sugli effetti della tiroidectomia. Intern. Monatsschr. 1894; Sulla fine alterazione dei centri nervosi e delle radici spinali dopo la tiroidectomia. Rif. med. 1892. — F. Capobianco e L. Mazziotti, Sugli effetti della paratiroidectomia. Estratto giorn. intern. delle scienze mediche, anno 21.

[3]) Vassale, Sugli effetti della estirpazione delle glandole paratiroidee. Riv. di patol. nervosa e mentale 1, 37, 1896; Ulteriori esperienze intorno alla glandola tiroide. Riv. sperim. di freniatria e med. leg. 1902.

Ich habe die widersprechenden Ergebnisse der verschiedenen Autoren hinsichtlich der Ausscheidung des Phosphors, des Kalkes und des Stickstoffs einer Prüfung unterzogen. Meine Versuchstiere waren stets Hunde von 6 bis 7 kg Gewicht, und die Versuche begannen immer erst, nachdem die Tiere einige Zeit im Institut gehalten waren. Die gewöhnliche Ernährung bestand in 300 ccm Milch und 400 g Brot und blieb dieselbe während der ganzen Untersuchung und Beobachtung. Der Harn wurde von einer bestimmten Stunde eines Tages bis zur selben des nächsten Tages aufgefangen und vor und nach der Exstirpation untersucht.

Phosphorstoffwechsel. Der größeren Genauigkeit halber bediente ich mich der Bestimmung durch Wägen, wodurch die alkalischen und organischen Phosphate sowie der organische Phosphor getrennt ermittelt wurden. Aus 25 ccm Harn wurden durch Ammoniak unter Erwärmung die erdalkalischen Phosphate gefällt, auf doppeltem tarierten schwedischen Filter gesammelt, im Ofen getrocknet und in einem kleinen Tiegel geglüht und gewogen. Danach wurde dem Filtrat ein Überschuß von Ammoniak und Magnesiamischung hinzugesetzt, dasselbe erhitzt und 24 Stunden stehen gelassen. Hierauf wurden die gefällten Alkaliphosphate gesammelt und als Magnesiumpyrophosphat gewogen. Nach Abscheidung dieser Phosphate ging ich an die Bestimmung des organischen Phosphors. Das Filtrat wurde in einer Silberschale bis zur Trockenheit abgedampft, der Rückstand mit trockener Soda und Calciumnitrat gemischt und allmählich an der Flamme erhitzt, bis die ganze Masse vollkommen geschmolzen und farblos geworden war. Dann ließ ich sie erkalten, löste sie in Wasser und filtrierte sie in eine Porzellanschale. Hierauf erfolgte Zusatz von Salpeter und Salzsäure und Konzentration auf ein kleines Volumen. Dann fügte ich eine Ammoniummolybdatlösung zu und erhielt bei geringer Erwärmung einen gelben Niederschlag von Phosphormolybdänammoniak. Dieser wurde auf einem kleinen Filter gesammelt, mit Salpetersäure gewaschen und zwecks Lösung die nötige Menge Ammoniak zugesetzt. Diese Lösung wurde dann mit einer Ammoniak-Magnesialösung versetzt, worauf sich ein weißer, krystallartiger Niederschlag von Ammoniummagnesiumphosphat bildete. Dieser wurde gesammelt, im Ofen getrocknet und zu Asche

verbrannt und dann als Magnesiumpyrophosphat gewogen. Aus den am Harn mehrerer Hunde ausgeführten Bestimmungen ging hervor, daß die Menge der erdalkalischen und alkalischen Phosphate fast dreimal so groß ist als im Harn normaler Tiere; der organische Phosphorgehalt ist ebenfalls etwas vermehrt.

Kalkstoffwechsel. Es ist üblich, den Kalk im Oxydzustande zu berechnen. Einer bestimmten Menge klaren Harns, der mit Ammoniak zur Neutralisierung der Säuren alkalisch gemacht worden ist, die sonst das Kalkoxalat lösen würden, wird Essigsäure zugesetzt, bis eine starke Säurereaktion auftritt, und dann eine 10%ige Ammoniumoxalatlösung, so daß eine merkliche Trübung wahrgenommen wird. Nach 24 Stunden setzt sich der Niederschlag zu Boden, wird auf einem Filter gesammelt, dessen Aschengehalt bekannt ist. Es ist sehr zu empfehlen, den Harn ganz allmählich durch das Filter laufen zu lassen, um zu verhindern, daß etwa ein Teil des Kalkoxalats mit ins Filtrat komme. Der Niederschlag wird dann mit destilliertem Wasser gewaschen, bis im Waschwasser bei Zusatz von Salpetersäure und salpetersaurem Silber keine Spur von Salzsäure mehr nachweisbar ist, und mit dem Filter im Platintiegel so lange geglüht, bis die Asche vollständig weiß geworden ist, und endlich nach Erkalten im Trockenexsiccator gewogen. Nach Abzug des Gewichts des Tiegels bleibt das Gewicht des geglühten Niederschlages, der aus CaO besteht und bei Behandlung mit Salzsäure sich ohne Aufbrausen löst. Aus den einzelnen Versuchen ergibt sich die Tatsache, daß der Kalk im Harn der der Schilddrüse beraubten Hunde an Menge vermindert ist.

Stickstoffwechsel. Die Bestimmung des Gesamtstickstoffs wurde nach Kjeldahl ausgeführt, eine Methode, die neben der bequemen Handhabung den Vorzug der Zuverlässigkeit besitzt. Voruntersuchungen zur Bestimmung der Stickstoffausscheidung im Harne der thyreoidektomierten Hunde haben sehr weit auseinandergehende Resultate ergeben. Nach einigen Autoren steigt die Ausscheidung, nach anderen fällt sie, oder sie bleibt dieselbe. Nach meinen Versuchen erfährt die Ausscheidung des Stickstoffs bei Hunden, denen man die Schilddrüse sowohl wie die Nebenschilddrüsen exstirpiert hatte, keine nennenswerten Veränderungen.

Experimentelles.

Versuch 1.

19. Januar 1912. Ausgewachsener männlicher Hund von 8 kg Gewicht. Wird während einiger Tage ernährt wie oben angeben; mehrfache mikroskopische und chemische Untersuchungen des Harns zeigen darin keinerlei pathologische Elemente. In dem während 24 Stunden aufgefangenen Harn wird die Phosphor-, Kalk- und Stickstoffbestimmung vorgenommen.

Vor der Operation.

Phosphor:

Tägliche Menge des Harns	Zur Bestimmung angew. Menge	Reaktion	Dichte des Harns	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate		Organischer Phosphor		Prozentsatz		
					Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate	Organischer Phosphor
ccm	ccm										
70	25	sauer	1040	0,0334	0,0480	0,0313	0,0114	0,0072	0,1340	0,1252	0,0281
80	25	sauer	1040	0,0310	0,0425	0,0272	0,0103	0,0065	0,1220	0,1088	0,0268

Kalk (CaO) im Durchschnitt . . . . 0,0351 bis 0,0361 %

Stickstoff „ „ . . . . 1,2500 „ 1,2300 „

Der Hund wird mit Morphium narkotisiert und die Operation der Schilddrüsen und Parathyreoideaentfernung aseptisch ausgeführt. Am nächsten Tage ist der Hund etwas geschwächt; dieser Zustand nimmt während der folgenden Tage noch zu, während die Wunde zuheilt. Am 6. Tage nach der Operation wird der 24stündige Harn gesammelt und die Phosphor-, Kalk- und Stickstoffbestimmung vorgenommen.

Nach der Operation.

Phosphor:

Tägliche Menge des Harns	Zur Bestimmung angew. Menge	Reaktion	Dichte des Harns	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate		Organischer Phosphor		Prozentsatz		
					Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate	Organischer Phosphor
ccm	ccm										
70	25	sauer	1045	0,0995	0,0489	0,0312	0,0166	0,0106	0,3980	0,1248	0,0424
70	25	sauer	1042	0,0800	0,0430	0,0275	0,0141	0,0090	0,3200	0,1100	0,0360

Kalk (CaO) im Durchschnitt . . . . 0,0230 %

Stickstoff „ „ . . . . 1,1500 „

Aus diesen Resultaten erhellt, daß die Erdalkaliphosphate im Verhältnis zu denen, die der Hund im normalen Zustande ausscheidet, fast verdreifacht sind; der organische Phosphor hat auch zugenommen. Die Kalkmenge ist vermindert. Hinsichtlich des Stickstoffes sind keine nennenswerten Unterschiede zu bemerken.

Versuch 2.

12. Februar 1912. Erwachsener männlicher Hund von 7 kg. Der gesammelte 24stündige Harn weist weder mikroskopisch noch chemisch pathologische Bestandteile auf. Bestimmung des Phosphors, Kalkes und Stickstoffes.

Vor der Operation.

Phosphor:

Tägliche Menge des Harns	Zur Bestimmung angew. Menge	Reaktion	Dichte des Harns	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate		Organischer Phosphor		Prozentsatz		
ccm	ccm				Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate	Organischer Phosphor
70	25	sauer	1035	0,0332	0,0420	0,0323	0,0113	0,0062	0,1330	0,1352	0,0381
70	25	sauer	1032	0,0312	0,0434	0,0262	0,0102	0,0065	0,1340	0,1288	0,0368

Kalk (CaO) im Durchschnitt . . . . 0,0371 %
Stickstoff " " . . . . 1,1900 "

Exstirpation der Schilddrüse und Nebenschilddrüsen; die Operation läuft sehr gut ab. Am nächsten Tage zeigt das Tier keine Störungen, es weist die Nahrung nicht nur nicht zurück, sondern frißt heißhungrig Brot mit Milch. Am 3. Tage aber liegt der Hund niedergeschlagen auf der Erde, atmet schwer, verweigert die Futteraufnahme, erholt sich dann aber wieder, steht auf und säuft Milch. Am folgenden Tage jedoch bemerkt man ein Zittern am Kopf und an den Vorderbeinen; er ist sehr durstig, er hat Jucken und taumelt beim Gehen. Diese Erscheinungen werden immer deutlicher und nehmen in den folgenden Tagen einen schweren Charakter an. Am 6. Tage wird der Harn zur Phosphor-, Kalk- und Stickstoffbestimmung aufgefangen.

Nach der Operation.

Phosphor:

Tägliche Menge des Harns	Zur Bestimmung angew. Menge	Reaktion	Dichte des Harns	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate		Organischer Phosphor		Prozentsatz		
ccm	ccm				Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate	Organischer Phosphor
70	25	sauer	1040	0,0895	0,0479	0,0323	0,0155	0,0105	0,3870	0,1348	0,0413
70	25	sauer	1042	0,0922	0,0532	0,0385	0,0121	0,0080	0,3670	0,1200	0,0356

Kalk (CaO) im Durchschnitt . . . . 0,0210 %
Stickstoff " " . . . . 1,1000 "

Auch hier also Zunahme der Phosphate und des organischen Phosphors, Abnahme des Kalkes. Der Stickstoffgehalt ist nicht wesentlich verändert.

Versuch 3.

12. März 1912. Männlicher erwachsener Hund, 7 kg schwer. Der Harn wird nach einigen Tagen gesammelt, er ist nach chemischen und mikroskopischen Untersuchungen vollkommen normal; Phosphor-, Kalk- und Stickstoffbestimmung.

Vor der Operation.

Phosphor:

Tägliche Menge des Harns	Zur Bestimmung angew. Menge	Reaktion	Dichte des Harns	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate		Organischer Phosphor		Prozentsatz		
ccm	ccm				Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate	Organischer Phosphor
80	25	sauer	1028	0,0324	0,0508	0,0223	0,0110	0,0062	0,1320	0,1242	0,0276
80	25	sauer	1030	0,0311	0,0434	0,0312	0,0103	0,0055	0,1230	0,1376	0,0268

Kalk (CaO) im Durchschnitt . . . . 0,0381 %
Stickstoff „ „ . . . . 1,1600 „

Operation der Schilddrüse und der Parathyreoidea. Sobald die Erscheinungen anfangen stark hervorzutreten, wird der Harn aufgefangen. Bestimmung des Phosphors, des Kalkes und des Stickstoffs.

Nach der Operation.

Phosphor:

Tägliche Menge des Harns	Zur Bestimmung angew. Menge	Reaktion	Dichte des Harns	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate		Organischer Phosphor		Prozentsatz		
ccm	ccm				Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate	Organischer Phosphor
75	25	sauer	1040	0,0885	0,0578	0,0322	0,0116	0,0104	0,3870	0,1338	0,0334
70	25	sauer	1044	0,0895	0,0440	0,0285	0,0131	0,0080	0,3300	0,1202	0,0414

Kalk (CaO) im Durchschnitt . . . . 0,0140 %
Stickstoff „ „ . . . . 1,1200 „

Versuch 4.

12. April 1912. Völlig ausgewachsener männlicher Hund. Gewicht 7 kg. Nach einigen Tagen wird der Harn aufgefangen und analysiert; keinerlei pathologische Elemente. — Phosphor-, Kalk- und Stickstoffbestimmung.

Vor der Operation.

Phosphor:

Tägliche Menge des Harns ccm	Zur Bestimmung angew. Menge ccm	Reaktion	Dichte des Harns	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate		Organischer Phosphor		Prozentsatz		
					Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate	Organischer Phosphor
80	25	sauer	1028	0,0324	0,0470	0,0220	0,0113	0,0062	0,1330	0,1362	0,0378
80	25	sauer	1029	0,1322	0,0452	0,0265	0,0112	0,1064	0,1230	0,1278	0,1267

Kalk (CaO) im Durchschnitt . . . . 0,0360 %
Stickstoff „ „ . . . . 1,1900 „

Entfernung der Schilddrüse und Nebenschilddrüsen. Am 6. Tage wird der Harn gesammelt. Bestimmung des Phosphors, des Kalkes und des Stickstoffes.

Nach der Operation.

Phosphor:

Tägliche Menge des Harns ccm	Zur Bestimmung angew. Menge ccm	Reaktion	Dichte des Harns	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate		Organischer Phosphor		Prozentsatz		
					Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphat	Organischer Phosphor
70	25	sauer	1042	0,0888	0,0579	0,0223	0,0116	0,0116	0,3970	0,1358	0,0828
70	25	sauer	1040	0,0995	0,0420	0,0312	0,0131	0,0080	0,3300	0,1200	0,0250

Kalk (CaO) im Durchschnitt . . . . 0,0120 %
Stickstoff „ „ . . . . 1,1900 „

Die Erdalkalkaliphosphate haben also an Menge zugenommen und ebenfalls der organische Phosphor. Der Kalkgehalt hat abgenommen. Beim Stickstoff ist keine nennenswerte Veränderung bemerkbar.

Versuch 5.

5. Mai 1912. Erwachsener männlicher Hund, 8 kg. Nach einigen Tagen wird der Harn aufgefangen und der Phosphor-, Kalk- und Stickstoffgehalt bestimmt.

Vor der Operation.

Phospor:

Tägliche Menge des Harns	Zur Bestimmung angew. Menge	Reaktion	Dichte des Harns	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate		Organischer Phosphor		Prozentsatz		
					Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate	Organischer Phosphor
ccm	ccm										
70	25	sauer	1030	0,0322	0,0321	0,0232	0,0131	0,0052	0,1230	0,1342	0,0341
70	25	sauer	1031	0,0212	0,0433	0,0321	0,0120	0,0045	0,1330	0,1277	0,0256

Kalk (CaO) im Durchschnitt . . . . 0,0360 %

Stickstoff „ „ . . . . 1,1800 „

Operation. Am 7. Tage wird der Harn aufgefangen und der Phosphor-, Kalk- und Stickstoffgehalt festgestellt.

Nach der Operation.

Phosphor:

Tägliche Menge des Harns	Zur Bestimmung angew. Menge	Reaktion	Dichte des Harns	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate		Organischer Phosphor		Prozentsatz		
					Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Magnesiumpyrophosphat	P_2O_5	Erdalkaliphosphate	Alkaliphosphate	Organischer Phosphor
ccm	ccm										
80	25	sauer	1040	0,0986	0,0579	0,0423	0,0245	0,0080	0,3760	0,1220	0,0365
80	25	sauer	1042	0,0876	0,0569	0,0412	0,0234	0,0070	0,3660	0,1210	0,0355

Kalk (CaO) im Durchschnitt . . . . 0,0180 %

Stickstoff „ „ . . . . 1,1500 „

Auch hier Zunahme des Gehaltes an Erdalkaliphosphaten und an organischem Phosphor, Abnahme dagegen an Kalk. Der Stickstoffgehalt ist nicht wesentlich verändert.

Ich beschränke mich vorläufig auf diese 5 Fälle, in denen nach Exstirpation der Schilddrüse und der Nebenschilddrüsen die Gesamterscheinungen einen regelmäßigen Verlauf nahmen und der Harn während der 12 bzw. 15 Tage, in denen das Tier am Leben blieb, aufgefangen werden konnte. In einigen anderen Fällen waren die Störungen indes so schwer, daß das Tier bereits am 3. oder 4. Tage nach der Operation starb. Hierbei wies der in bedeutend geringerer Menge ausgeschiedene Harn

entweder Spuren von Zucker auf, oder er zeigte alle charakteristischen Symptome einer schweren Nierenentzündung (Albuminurie, Cylindrurie, Blut). In solchen Fällen war also eine quantitative Bestimmung des Harns ausgeschlossen. Unter anderem begegnete mir ein Fall, in dem der Hund nach der Operation während der nächstfolgenden Tage und selbst noch längere Zeit nachher sich völlig normal verhielt. Bei der Sektion ergab sich die Entfernung des gesamten Schilddrüsenapparates als vollkommen geglückt; das Nichtauftreten der bekannten Symptome bleibt daher unerklärbar. In einem anderen Falle wies der Hund gleich nach der Entfernung von Schilddrüse und Parathyreoiden die beobachteten Folgeerscheinungen auf (Zittern, Schweratmigkeit usw.); nach einigen Tagen wurden diese jedoch, anstatt stärker, allmählich schwächer und verschwanden endlich ganz. Darauf wurde die Wunde am Halse wieder geöffnet, wobei einesteils zwar die vollständig gelungene Entfernung des gesamten Schilddrüsenapparates, anderenteils aber auch eine bedeutende Hypertrophisierung der umliegenden Lymphdrüsen konstatiert wurde. Letztere wurden nun entfernt und das Tier lebte noch lange, ohne auch jetzt irgendwelche charakteristischen Erscheinungen zu zeigen. Im folgenden gebe ich diese sog. negativen Fälle.

Erster Fall. Erwachsener männlicher Hund von 8 kg. Der Harn wird nach einigen Tagen aufgefangen; darin wird nichts Abnormes vorgefunden. Gewöhnliche Bestimmung des Phosphors, Kalks und Stickstoffs. Der Hund wird dann operiert und während der folgenden Tage wie im normalen Zustande ernährt, ohne daß die bekannten Erscheinungen wahrgenommen werden. Die Operation am Halse ergibt die vollständige Entfernung der Schilddrüse und der Parathyreoidea. Hier haben wir noch keine Erklärung für das Ausbleiben der üblichen Symptome.

Zweiter Fall. Erwachsener männlicher Hund von 7 kg. In dem nach einigen Tagen aufgefangenen Harn sind keine Anomalien nachweisbar. Bestimmung des Phosphors, Kalks und Stickstoffs; dann Operation. Am nächsten Tage ist der Hund niedergeschlagen und verweigert die Nahrung. Dies hält bis zum 4. Tage an, doch fehlen die wirklich charakteristischen Erscheinungen, nur ist die Harnabsonderung gering, und der Harn ist rötlich. In der auf den 4. Tag folgenden Nacht stirbt das Tier. Im abgesonderten Harn fanden sich viel Eiweiß, Blut und Nierencylinder (Nierenentzündung) vor.

Dritter Fall. Erwachsener männlicher Hund von 8 kg. Der nach einigen Tagen aufgefangene Harn ist absolut frei von pathologischen

Elementen. Bestimmung des Phosphors, Kalks und Stickstoffs und dann Ablösung des Schilddrüsenapparates. Nach 5 Tagen werden nervöse Störungen wahrgenommen, die sich am 7. Tage besonders steigern. Im aufgefangenen Harn viel Eiweiß, Blut, Nierencylinder. Keine Bestimmung des Phosphors, Kalks und Stickstoffs. — Der Hund lebte bis zum 26. Tage; die anfänglich beobachteten Erscheinungen schwächten sich mit der Zeit ab und verschwanden am Ende ganz. Bei der Sektion ergab sich eine unvollständige Entfernung des Schilddrüsenapparates. Auf einer Seite war der untere Teil noch vorhanden; dieser hatte wohl die Autointoxikation neutralisiert.

Vierter Fall. Erwachsener männlicher Hund von 8 kg. Nach einigen Tagen Untersuchung des Harns mit negativem Resultat hinsichtlich irgendwelcher Krankheitsanzeichen. Bestimmung des Phosphors, Kalks und Stickstoffs und dann Operation. In den ersten Tagen treten die bekannten Erscheinungen auf, die jedoch nach wenigen weiteren Tagen zurückgehen und schließlich ganz verschwinden. Die Kontrolloperation ergibt vollständig glatte Entfernung des gesamten Schilddrüsenapparates; doch sind die umliegenden Lymphdrüsen bedeutend vergrößert; dieselben werden ausgeschnitten. Der Hund lebt noch längere Zeit und stirbt endlich, ohne die charakteristischen Symptome gezeigt zu haben.

Zusammenfassung.

Schilddrüse und Parathyreoiden üben auf den Phosphorstoffwechsel einen großen Einfluß aus, den man einen mäßigenden nennen könnte. Es scheint, als ob nach vollständiger Entfernung des Organs die Phosphorausscheidung jedes Maß verloren hätte; sie nimmt außerordentlich zu, hauptsächlich in der Form der Erdalkaliphosphate, bis ihre Menge 3 mal so groß wird wie beim normalen Tier. — Dagegen sinkt die Kalkabsonderung. — Hinsichtlich des Stickstoffs ist kein nennenswerter Unterschied wahrzunehmen.

Erklärung

von

J. Lifschütz, Hamburg

zu

E. Schreiber und Lénárd, „Über Cholestearine".

(Diese Zeitschr. 49, 458ff.)

(Eingegangen am 22. April 1913.)

Nachdem ich kürzlich von der vorbezeichneten Arbeit Kenntnis erhalten habe, sehe ich mich veranlaßt, zu erklären, daß das der Arbeit von Schreiber und Lénárd zugrunde liegende experimentelle Material mit Ausnahme der Durchblutungsversuche (S. 463) von Schreiber und mir unter durchaus gleichberechtigenden Arbeitsbedingungen herrührt. Der chemische und laboratoriumstechnische Teil rührt sogar von mir allein her.

Ich bedauere, daß diese Arbeit, mit der ich jetzt noch beschäftigt bin, und über die ich demnächst eine vorläufige Mitteilung an dieser Stelle zu veröffentlichen beabsichtige, ohne mein Wissen und Wollen in einem so unfertigen Zustand veröffentlicht worden ist.

Autorenverzeichnis.




[redacted]

